

**Über praedisponierende Faktoren auf der Hautoberfläche
bei Candidiasis**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps - Universität Marburg**

**vorgelegt von
Anka Geilhof
aus Mindelheim**

Marburg 1975

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Philipps-Universität Marburg an der Lahn
Direktor: Prof. Dr. med. H. C. Friederich

Über praedisponierende Faktoren auf der Hautoberfläche
bei Candidiasis

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Anka Geilhof
aus Mindelheim

Marburg 1975



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am 25. 3. 1975
gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen
Referent: Prof. Dr. med. H. C. Friederich
Correferent: Prof. Dr. med. dent. H. Bernhardt

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. <u>Einführung in die Problematik</u>	1
B. <u>Material und Methodik</u>	
I. Untersuchte Kollektive	7
II. Untersuchungsmethoden	9
1. Quantitative Lipidbestimmung	9
2. Dünnschichtchromatographische Analyse der Hautoberflächenlipide	12
3. Extraktion und Analyse der wasser- löslichen Substanzen	18
a) Bestimmung mit der Ferricyanid- Methode	18
b) Bestimmung mit der Phenol- H ₂ SO ₄ -Methode	20
c) Bestimmung mit der Ninhydrin- Methode	22
d) Bestimmung der Milchsäure	25
4. Bestimmung der Alkalineutralisations- zeit	29
5. Bestimmung der Alkaliresistenz	30
6. Bestimmung der Wasserspreitung	31
III. Statistische Auswertung	33
C. <u>Ergebnisse</u>	34
D. <u>Diskussion</u>	51
E. <u>Zusammenfassung</u>	54
F. <u>Literaturverzeichnis</u>	55

A. Einführung in die Problematik

Während früher die sog. Soormykose in erster Linie bei konsumierenden Erkrankungen wie Karzinosen, Stoffwechselstörungen und Säuglingsdyspepsien beobachtet wurde, hat sich die Zahl der Candidiasisfälle in den vergangenen Jahrzehnten laufend vergrößert. Dementsprechend ist auch die Zahl der Publikationen über die Soorinfektionen stark in die Höhe geschneilt. Die Zunahme der Soormykosen scheint mit der zunehmenden therapeutischen Applikation von Sulfo-
namiden und Antibiotika verbunden zu sein.

Die Candidamykose manifestiert sich in erster Linie auf der Haut und den Schleimhäuten. Dabei kommt es häufig vor, daß sich *Candida albicans* auch auf Hauterkrankungen anderer Art aufpflanzt, ohne daß diesem Pilz eine wesentliche pathogene Bedeutung zukommt. Bei ganz schweren Fällen kann es jedoch zu einer Candida-Sepsis oder zu einer Organabsiedlung von *Candida albicans* kommen, was dann stets mit außerordentlich schweren Krankheitsbildern verbunden ist. Die Möglichkeit des Auftretens einer Candida-Sepsis läßt sich gut erklären, nachdem nachgewiesen werden konnte, daß *Candida albicans* per Persorption aus dem Darm in das Blut und schließlich sogar in den Urin gelangt. Eigentlich ist es erstaunlich, daß eine derartige Candida-Sepsis so selten vorkommt. Daher kommt man zu dem Schluß, daß der Körper unter normalen Umständen in der Lage ist, *Candida albicans* im Blut zu zerstören.

Unter den klinischen Formen der Candidiasis sind zunächst die lokalisierten Formen hervorzuheben.

Hierzu gehört der Angulus infectiosus candidamyceticus im Bereich der Mundwinkel. Dabei handelt es sich um ein außerordentlich häufiges Syndrom, das besonders oft bei weitgehender oder totaler Zahnlosigkeit und die dadurch hervorgerufene Bißsenkung mit dauernder Durchfeuchtung der Mundwinkel, aber auch bei schlecht sitzenden Prothesen zu

beobachten ist. Auch eine Vitaminmangelerkrankung, eine Achylia gastrica und eine Eisenmangelanämie können dafür eine Prädisposition darstellen.

Eine weitere sehr wichtige lokalisierte Form der Candidiasis ist die Erosio interdigitalis candidamycetica, die besonders in den Zwischenräumen der Finger, selten auch in denen der Zehen auftritt. Es scheint, daß gerade diese Form der Candidamykose in einem Zusammenhang steht mit der exogenen Aufbringung von Zuckern, die ja besonders an dieser Stelle sehr schlecht durch die Körperreinigung entfernt werden. Auch die Erosio interdigitalis candidamycetica ist ein häufiges Bild.

Eine sehr wichtige weitere Form ist die intertriginöse Candidamykose. Dabei ist es häufig nicht klar, ob primär ein intertriginöses Ekzem oder bereits eine Candidiasis vorgelegen hat. Man kann jedoch davon ausgehen, daß in den typischen Fällen tatsächlich Candida albicans der Erreger ist. Kennzeichnend ist ein nässendes und schuppendes Bild, an dessen Rand sich papulo-pustulöse Einzeleffloreszenzen mit schuppenden und flottierenden gyrierten Rändern abwechseln. Eine besonders häufige Lokalisation dafür ist die perianale, die submammäre, die axilläre und die inguinale. Besonders stark betroffen von diesen Formen sind adipöse Menschen, Personen mit einem Diabetes mellitus und bezüglich der Mamma Frauen mit Hängebrüsten. Eine weitere typische Lokalisation ist schließlich auch noch der Nabelbereich. Die intertriginöse Candidamykose findet sich besonders häufig bei Säuglingen.

Schließlich findet sich auch noch eine weitere wichtige Form, nämlich die Candidaparonychie, bei der es zu einer Entzündung des Nagelwalles kommt und teilweise zu einer eitrigen Sekretion. Eine Schädigung des Nagelwachstums wird dabei beobachtet.

Fragwürdig ist es, ob *Candida albicans* auch für Haarentzündungen im Bereich der Bartgegend verantwortlich zu machen ist. Möglicherweise handelt es sich dabei nur um einen sekundären Befall. Eine Form, die schließlich ebenfalls außerordentlich selten ist, ist die *Candida-Mykosis cutis profunda*, die mit Narben und Depigmentationen abzuheilen pflegt.

Selten ist auch zumindest beim Erwachsenen die *Candida-Mykosis cutis generalisata*, die jedoch beim Säugling häufiger gefunden wird.

Während bisher die Formen aufgezeichnet wurden, die vor allem die äußere Haut befallen, muß noch der Schleimhautsoor hervorgehoben werden. Als besonders bemerkenswert gilt dabei die Veränderung an der Mundschleimhaut, die vor allem beim Säugling, aber auch bei Tumorpatienten und sonstigen sehr hinfälligen Patienten gefunden wird. Kennzeichnend sind hier weiße Beläge auf der Mundschleimhaut.

Sehr häufig findet sich die *Candidiasis* schließlich im Bereich des Darmes, was an sich keine pathogenen Veränderungen bedingt, was aber andererseits vielfach einen Streuherd für die intertriginöse *Candidiasis* darstellt.

Hervorzuheben ist letztlich noch die *Balanitis candidamyctica*, die sich in der letzten Zeit außerordentlich stark vermehrt hat. So ist ein großer Teil der Patienten einer Männer-Poliklinik der Dermatologie von dieser Krankheit befallen. Dem entspricht der *Candida-Fluor* bei der Frau, der gleichzeitig für die ständigen Reinfektionen bei der *Candida-Balanitis* verantwortlich ist.

Nur am Rande sollen die *Candidamykosen* erwähnt werden, die sich in der Lunge, aber auch im Zentralnervensystem manifestieren.

Das klinische Bild der *Candidamykosen* ist dementsprechend als außerordentlich polymorph zu bezeichnen.

Deswegen ist es um so wichtiger, daß die Diagnose einer Candidiasis immer durch eine mykologische Untersuchung gesichert wird. *Candida albicans* läßt sich im Nativpräparat darstellen. Ein sehr viel besseres Verfahren ist aber der kulturelle Nachweis, der auch bei unseren Fällen stets erbracht wurde.

Die Candidamykosen sind in den vergangenen Jahren auch zunehmend ein dankbares Feld der dermatologischen Therapie geworden. Grundsätzlich ist bei der Behandlung immer zu beachten, daß austrocknende Grundlagen Verwendung finden. Leider läßt sich aus galenischen Gründen bei einigen sehr gut antimykotisch wirksamen Substanzen eine trockene Zubereitung sehr schlecht herstellen. Grundsätzlich aber sollte beachtet werden, daß nur Lösungen, Pasten oder Schüttelmixturen als geeignete Grundlagen für die externe Behandlung der Candidamykose anzusehen sind.

Als Wirkstoffe für die antimykotische Behandlung der Candidiasis haben sich insbesondere das Nystatin aber auch das Amphotericin B durchgesetzt. Beide Substanzen befinden sich in zahlreichen Externa zur Behandlung der Candidamykosen. Bewährt hat sich aber auch die lokale Anwendung von Farbstoffen, wie Gentianaviolett, Brillantgrün oder Solutio Castellani. Bezüglich des Nystatin scheint ein besonderer Nachteil dadurch gegeben, daß nur in fettigen Grundlagen eine gute Verarbeitung möglich ist. Handelsübliche Pasten mit Nystatin haben den Nachteil, daß sie verhältnismäßig kurzzeitig stabil bleiben, wenn die Tuben eröffnet sind.

In der jüngsten Zeit hat die Behandlung der Candidamykosen eine gewisse Änderung dadurch erfahren, daß zunehmend Breitspektrumentimykotika Verwendung finden, die sowohl gegen Faden- als auch gegen Hefepilze wirksam sind. Insofern ist die Therapie der Candidamykosen bedeutend vielgestaltiger geworden im Vergleich zu früher.

Ein wichtiger Gesichtspunkt ist die häufige Besiedlung des Magen-Darm-Traktes mit *Candida albicans* wegen der permanenten Gefahr von Reinfektionen. Aus diesen Gründen wird gleichzeitig eine perorale Behandlung mit Nystatin aber auch mit Amphotericin B durchgeführt. Es wurde in der Literatur auch vorgeschlagen, Gentianaviolett zusätzlich auch peroral zu verabreichen. Eine derartige Sanierung des Magen-Darm-Traktes ist unerlässlich, wenn man Rezidive vermeiden will. Selbstverständlich gilt auch für die Formen der Candidiasis, die durch den Geschlechtsverkehr übertragen werden, also bei Fluor candidamyceticus, sowie bei der Balanitis candidamycetica, daß sie unter allen Umständen eine Behandlung des Geschlechtspartners voraussetzen.

Ein großes Problem stellt die Behandlung der Candidiasis innerer Organe bzw. der Candida-Sepsis dar. Dazu steht vor allen Dingen das Amphotericin B zur Verfügung, wobei jedoch zu bedenken ist, daß sehr leicht toxische Nebenwirkungen dieses Präparates eintreten.

Auf der anderen Seite sind die Candida-Sepsis bzw. Organmykosen außerordentlich selten und werden in der dermatologischen Sprechstunde praktisch nie beobachtet.

Über praedisponierende Faktoren für die Candidiasis ist in der Literatur relativ wenig bekannt. Es gehört zu den klinischen Erfahrungen, daß nicht jeder mit *Candida albicans* Infizierte auch an einer Candidiasis erkrankt. Wenn das der Fall wäre, müßte praktisch das gesamte Pflegepersonal der dermatologischen Kliniken und Polikliniken an einer Candidiasis leiden. Die bisherigen Untersuchungen zu der Frage der Praedisposition waren vor allem klinischer Natur und erstreckten sich darauf, zu erfassen, welche Patienten an einer Candidiasis erkranken. Auf die bisherigen dazu erhobenen Untersuchungsergebnisse soll unten in der Diskussion eingegangen werden.

Keine Untersuchungen liegen indessen bisher über eventuell veränderte Verhältnisse auf der Hautoberfläche vor,

also des stratum corneum bei Candidiasispatienten. Solche Veränderungen wären jedoch von großer Wichtigkeit, da sie möglicherweise das Angehen der Candidamykosen sehr stark beeinflussen.

So hatten wir uns bei der vorliegenden Untersuchung die Aufgabe gestellt, von der Norm abweichende Faktoren auf der Hautoberfläche der Candidiasis-Patienten aufzufinden und die pathogenetische Bedeutung dieser Faktoren abzuklären.

B. Material und Methodik

I. Untersuchte Kollektive

Das Candidiasis-Kollektiv

bestand aus 7 männlichen und 13 weiblichen Versuchspersonen im Alter von 21 bis 80 Jahren, die im Laufe der letzten 2 Jahre oder zum Zeitpunkt der Untersuchung an einer Candidiasis erkrankt waren. Davon litten 18 Versuchspersonen an einer intertriginösen Candidiasis und zwei an einer Erosio interdigitalis candidamycetica. Die Diagnose war durch eine Pilzkultur gesichert. Bei 5 Fällen war ein Diabetes mellitus bekannt, 13 mal konnte ein Diabetes durch Nüchternblutzuckerbestimmungen ausgeschlossen werden. Zweimal konnte diese Untersuchung nicht durchgeführt werden, so daß keine sichere Aussage darüber möglich ist, ob ein Diabetes vorliegt. Teilweise wurden die Candidiasispatienten mit Diabetes und die Candidiasispatienten, bei denen ein Diabetes ausgeschlossen werden konnte, zu eigenen Kollektiven zusammengefaßt. Deren Alters- und Geschlechtszusammensetzung entsprachen weitgehend der des Gesamtkollektivs.

Das Vergleichskollektiv

bestand aus 13 männlichen und 26 weiblichen Versuchspersonen im Alter von 20 bis 81 Jahren, die nie an einer Candidiasis erkrankt waren. Es wurde streng darauf geachtet, daß dieses Kollektiv bezüglich der Alterszusammensetzung weitestgehend dem Candidiasis-Kollektiv entsprach.

Sämtliche Versuchspersonen

hatten mindestens 3 Tage vor den Untersuchungen jede Reinigung der Haut im Bereich der Versuchsstellen zu unterlassen. Kosmetische und dermatologische Externa hatten sie an den Versuchsstellen seit langem nicht be-

nützt. Bis zum Zeitpunkt der Untersuchung waren sie alle mit Ausnahme der Candidiasis frei von Hautveränderungen.

Teilweise konnten nicht alle Untersuchungen vorgenommen werden. Die Fallzahlen für die einzelnen Untersuchungen finden sich im Ergebnisteil. Dadurch wurde aber nie die Alters- und Geschlechtsverteilung der Kollektive wesentlich geändert.

Hervorgehoben werden muß schließlich noch, daß die Untersuchungen bei beiden Kollektiven so vorgenommen wurden, daß jahreszeitliche und klimatische Unterschiede als Ursache der erhobenen Befunde ausgeschlossen werden können.

Alle Untersuchungen wurden - soweit sie an den Versuchspersonen selbst erfolgten - nach mindestens 1/2-stündiger Adaptation unter standardisierten Umweltbedingungen (25° C und 45 % rel. Luftfeuchtigkeit) in der Klimakammer vorgenommen.

II. Untersuchungsmethoden

Vorbemerkung:

Da es sich bei den von uns angewendeten Methoden um sehr empfindliche Bestimmungen handelt, ist es eine Grundvoraussetzung, daß mit ganz sauberen Instrumenten gearbeitet wird. Sämtliche Glasgefäße wurden einer sorgfältigen Reinigung unterzogen:

- a) Lagerung der Glasartikel 24 Std. in einem Chromschwefelsäurebad
- b) Spülen unter fließendem Wasser
- c) Nachspülen mit destilliertem Wasser
- d) Trocknen im Trockenschrank 1 Std. bei 120° C
- e) Aufbewahrung in geschlossenen Gefäßen
- f) Zur Vermeidung von Fettspuren und anderen Verunreinigungen durch die Hand, wurden die Gefäße nur mit Pinzetten angefaßt.

1. Quantitative Bestimmung der Hautoberflächenlipide

Die Extraktion der Hautoberflächenlipide und deren gravimetrische Bestimmung führten wir nach der von CARRIE (8) beschriebenen und von SCHIRREN und HONSIG (58) modifizierten Methode durch. Wir benützten hierzu einen oben und unten offenen Glaszylinder (Höhe: 50 mm, Ø 45 mm und Grundfläche ca. 16 cm²), den wir mit der einen Hand etwa zwischen den Schulterblättern direkt auf die Haut des Probanden aufsetzten.

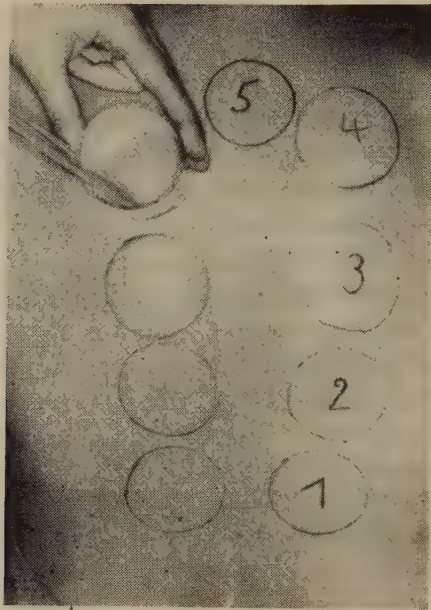


Abb. 1 Extraktionsstellen auf der Haut (einmal mit aufgesetztem Glaszylinder und Pipette)
Kreis Nr. 5 zeigt die Grundfläche für die Lipidextraktion
Kreise 1 - 4 und die Kreise ohne Nummern stellen die Grundflächen für das sog. Wasserlösliche dar.

Mit der anderen Hand füllten wir mittels einer Glaspipette 10 ml des Lösungsmittels (Petroleumbenzin p.A. mit einem Siedebereich von 40 - 60° C der Fa. E. Merck, Darmstadt, Art. 1775) in den Glaszylinder. Jetzt wurde der Glaszylinder mit dem Petroläther mit sanftem Druck 2 Min. in leicht kreisenden Bewegungen auf der Haut bewegt. Anschließend wurde der Petroläther mit den gelösten Lipiden wieder abpipettiert und in ein bereitstehendes Reagenzglas filtriert. Wir dampften dann das Lösungsmittel mit

Hilfe eines Exsikkators, der an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen war, ab und bewahrten das Reagenzglas, an dessen Rand sich ein dünner Lipidfilm gebildet hatte, in einer Kühltruhe bei -21°C auf.

Zur quantitativen Bestimmung wurden die Lipide in 2 ml Petroläther gelöst und mittels Pasteurpipetten in Wägeschälchen, deren Gewicht vorher bestimmt worden war, gefüllt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels im Exsikkator wurden die Wägeschälchen in einem offenen, mit Kieselgur bestückten Exsikkator zur Entfernung der restlichen Feuchtigkeit in einen Trockenschrank (ca. 1 Std. bei 50°C) gestellt. Anschließend kamen



Abb. 2 Ein Wägeschälchen wird in einen Exsikkator gestellt, der in der unteren Etage Kieselgur enthält

die mit den Lipiden gefüllten Wägeschälchen für 24 Std. im geschlossenen Exsikkator in die Klimakammer, wo auch deren Gewichtsbestimmung in der Mikrowaage (Mettler M 5 SA) erfolgte. Man erhält das reine Lipidgewicht, wenn man die Gewichts Differenz der gefüllten zu den leeren Wägeschälchen bildet.

2. Dünnschichtchromatographische Analyse der Hautoberflächenlipide

Wir überführten die Lipide, die in 2 ml Chloroform gelöst waren, in MKR-Röhrchen, die bis zur Weiterverarbeitung bei -21°C in der Kühltruhe aufbewahrt wurden.

Sämtliche Proben wurden nach der Objektträgermethode von VAN GENT (16) in der von GLOOR et al. (17) angegebenen Modifikation und unter Berücksichtigung der von GRAUMANN (23) ermittelten Korrekturfaktoren analysiert.

Die Methode erlaubt eine Auftrennung der Hautoberflächenlipide in folgende Fraktionen: Cholesterin, freie Fettsäuren, Triglyceride, Wachsester, Squalen und Paraffin. Es können auch Spuren anderer Lipide in diesen Fraktionen enthalten sein, z.B. Diglyceride in der Cholesterinfraktion und Cholesterinester in der Wachsesterfraktion. Die Identifizierung dieser Lipidfraktionen ließ sich mit Hilfe von Reinsubstanzen durchführen.

Als Adsorptionsmittel diente Kieselgel (KG H Fa. Stahl), das in verschiedenen Reinigungsprozessen "gewaschen" worden war. Es wurde dabei nacheinander in verschiedenen Flüssigkeiten aufgeschwemmt (in Aqua bidest., 2 mal in Methanol, in einem Gemisch aus gleichen Teilen Methanol und Chloroform, 3 mal in Chloroform) und anschließend jeweils bei 3000 Upm zentrifugiert.

Wir stellten eine Suspension von diesem Kieselgel her, indem wir 30 g KG in 100 ml Chloroform verrührten. Als Dünnschichtplatten verwendeten wir Objektträger (25 x 76 mm), die vorher in der oben angegebenen Weise entfettet

wurden. Zum Beschichten tauchten wir die Objektträger mit einer Pinzette kurz in die Kieselgelsuspension und ließen sie an der Luft trocknen. Nun entfernten wir mit einem sauberen Leinenlappen das Kieselgel von der Rückseite des Objektträgers und streiften die Ränder der Schicht auf der Vorderseite etwa 1 mm breit ab, um Randeffekte zu vermeiden (Veränderung der R_f -Werte nach oben und unten).

Aus den in den MKR-Röhrchen befindlichen Lipiden stellten wir eine 1 %ige Lösung her und verwendeten hierbei Chloroform als Lösungsmittel. Auf die Dünnschichtplatten trugen wir nun mit einer feinen Kapillare das zu trennende Lipidgemisch etwa 7 mm vom unteren Rand des Objektträgers punktförmig tupfend in einer feinen Linie auf.

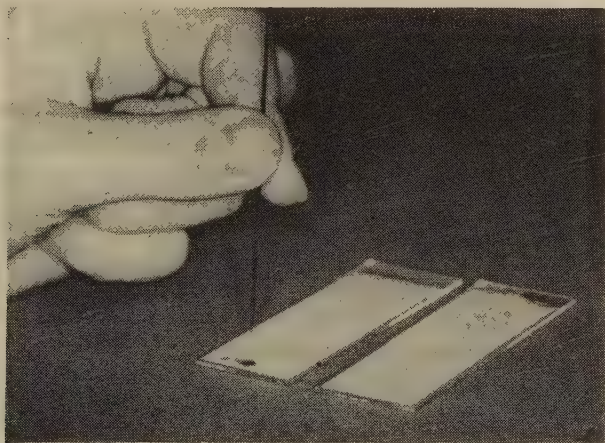


Abb. 3 Auftragen des Lipidgemisches mittels einer Kapillare. (Zur besseren Darstellung wurde statt des Lipidgemisches eine Farblsg. verwendet).

Diese Dünnschichtplatten wurden dann in verschiedene Dünnschichtchromatographiegefäße gestellt.

Fließmittel:

1. Als erstes Fließmittel wurde Hexan verwendet. Wir ließen es bis ca. 5 mm vor den oberen Rand der Kieselschicht laufen, nahmen dann die Platten aus dem Glas und ließen sie an der Luft trocknen.

2. Nun stellten wir die Platten in Gläser, die ein Gemisch aus Hexan/Äther/Eisessig (7 : 3 : 0,1) enthielten und entwickelten bis etwa 10 mm über die Auftragslinie. Um den Eisessig zu verdunsten, legten wir die Platten 15 sec auf eine Heizplatte (100° C).

3. Im letzten Fließmittel, dem Benzol, entwickelten wir bis kurz vor die Hexan-Front und ließen die Platten dann lufttrocknen.

Um die einzelnen Lipidfraktionen darzustellen, sprühten wir 40 %ige Schwefelsäure als feinen Nebel auf die Dünnschichtplatten. Wir verwendeten dafür ein Sprühgerät der Firma Desaga, Heidelberg. Nun wurden die Platten langsam auf 200° C erhitzt. Hierbei stellten sich die Cholesterinfraktionen bald als rötliche Streifen dar, die wir markierten. Bei etwas höherer Temperatur färbten sich sämtliche Lipidfraktionen in verschiedenen Grauschattierungen an.

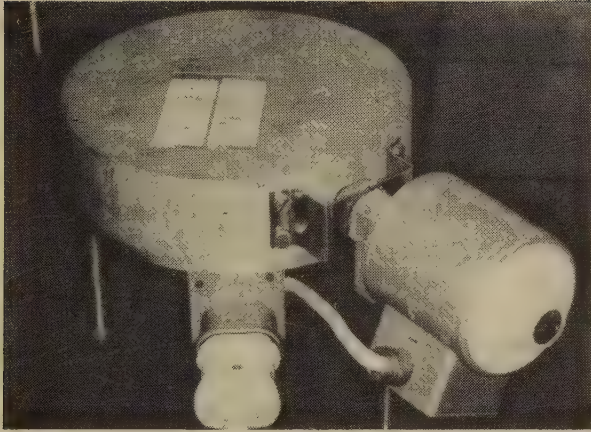


Abb. 4 Heizplatte mit Dünnschichtchromatographieplatten, bei denen schon die einzelnen Lipidfraktionen sichtbar sind

Densitometrie

Die quantitative Auswertung der Dünnschichtchromatographien erfolgte mit Hilfe eines Densitometers (Chromoscangerät der Fa. Joyce Loeb), das im wesentlichen wie ein Photometer funktioniert. Das Gerät stellt die

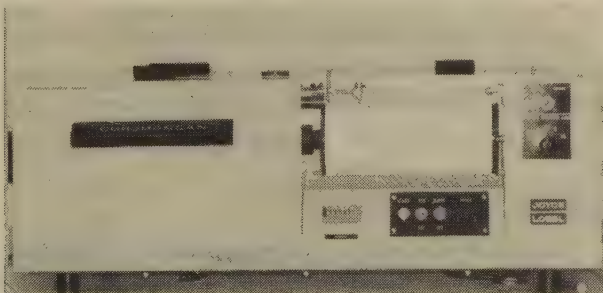


Abb. 5 Densitometer (Chromoscangerät der Fa. Joyce Loeb)

Schwärzung der einzelnen Lipidfraktionen in einer Densitometerkurve dar. Ein eingebauter Integrator ermittelt die einzelnen Flächen unter den Kurven.

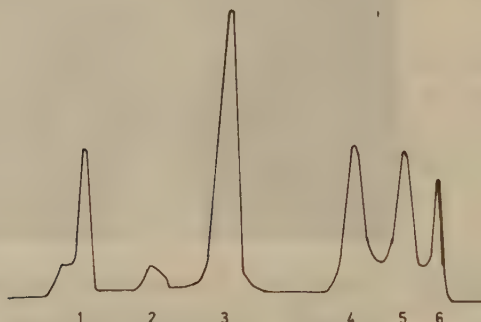


Abb. 6 Densitometerkurve
(Graphische Darstellung der einzelnen Lipidfraktionen)

- 1 Cholesterin
- 2 Freie Fettsäuren
- 3 Triglyceride
- 4 Wachsester
- 5 Squalen
- 6 Paraffine

Schwärzungsfaktoren

Da sich die verschiedenen Lipidfraktionen unterschiedlich anfärben, wurden die zugehörigen Schwärzungsfaktoren mit Hilfe bekannter Standardsubstanzen ermittelt. (GRAU-MANN) (23).

Bei standardisierten Bedingungen ist der Grad der Schwärzung der einzelnen Lipidfraktionen nur von der Struktur der jeweiligen Lipide abhängig. Es färben sich z.B. Triglyceride mit kurzkettigen aber gesättigten Fettsäuren bei gleicher Menge nicht so dunkel wie hochungesättigte Fettsäuren. GRAUMANN (23) ermittelte für die auf der Haut vorkommenden Lipide folgende Schwärzungsfaktoren, wobei er für das Cholesterin willkürlich den Faktor 1 annahm:

	<u>Schwärzungsfaktoren:</u>
Cholesterin	1,00
Freie Fettsäuren	1,11
Triglyceride	1,35
Wachsester	0,96
Squalen	0,97
Paraffin	1,08

Man multipliziert die Zahl, die die Größe eines Peaks einer bestimmten Lipidfraktion angibt mit dem zu dieser Lipidfraktion gehörenden Schwärzungsfaktor, und setzt die Summe der auf diese Weise korrigierten Peaks als 100 %. Nun kann man mit Hilfe des Dreisatzes die prozentuale Verteilung der einzelnen Lipidfraktionen bestimmen.

Beispiel einer Berechnung:

Für ein Wachsester-Peak ermitteln wir die Zahl 58. Der Schwärzungsfaktor für Wachsester ist 0,96. Die Multiplikation dieser beiden Zahlen ergibt $58 \times 0,96 = 55,68$. Die Summe aller korrigierten Peaks dieser Densitometerkurve ist 315. Sie wird gleich 100 % gesetzt.

$$\begin{array}{rcl} 315 & = & 100 \% \\ 58 & = & x \% \end{array} \qquad \frac{100 \times 55,68}{315} = 17,6 \%$$

Der Anteil der Wachsesterfraktion beträgt also in diesem Beispiel 17,6 %.

3. Extraktion und Analysen der wasserlöslichen Substanzen

Wir extrahieren je 4 mal beidseitig im Bereich der Linea paravertebralis in Höhe von Th. 4 - Th. 12. (Siehe Abb. 1). Als Lösungsmittel dient Aqua bidest. Mit einer Pipette füllen wir 10 ml Aqua bidest in einen Glaszylinder mit einer Grundfläche von ca. 24 cm^2 und führen Schüttelbewegungen aus. (Abb. 1)

Nach 2 Min. wird das Wasser abpipettiert, der Zylinder auf ein neues Hautareal gesetzt und wieder mit diesem Wasser, das bereits die gelösten Substanzen aus dem ersten Hautstück enthält, gefüllt. Auf diese Weise extrahieren wir insgesamt 4 mal auf der einen Seite der Wirbelsäule und erhalten schließlich ca. 9,5 ml Untersuchungsmaterial, das in ein Reagenzglas gegeben wird. Auf der anderen Seite der Wirbelsäule wird auf die gleiche Weise extrahiert und das gewonnene Material zu dem bereits vorhandenen gefüllt.

Da auf der Haut immer ein geringer Rest Wasser zurückbleibt, erhalten wir nach sämtlichen Extraktionen nur noch etwa 19 ml Untersuchungsmaterial von den ursprünglich 20 ml Aqua bidest zurück.

Wir führen an diesem Material folgende Analysen durch:

a) Bestimmung der reduzierenden Substanzen mit Hilfe der Ferricyanid-Methode (Reduktions-Methode)

Wir führen diese Analyse nach der von PARK und JOHNSON (54) angegebenen Methode durch.

Hierbei werden vor allem gebundene Zucker, Milchsäure, Zitronensäure, Glycerin und Aminosäuren (Tyrosin, Serin und Cystin) erfaßt.

Material und Methodik

Benötigte Reagenzien:

Lsg. I 0,5 g Kaliumhexacyanoferrat (III) p.A. Riedel-De Haen AG $\text{K}_3 (\text{Fe} (\text{CN})_6)$ pro 1 l Aqua bidest.

- Lsg. II 5,3 g Natriumkarbonat wasserfrei p.A.
 Merck 6392 + 0,65 g Kaliumcyanid p.A.
 Merck 4967 pro 1 l Aqua bidest.
- Lsg. IIa 5 g Natriumlaurylsulfat, Fa. Carl Roth OHG
 Karlsruhe pro 100 ml Aqua bidest.
- Lsg. III 3 g Ammonium Eisen (III)-sulfat p.A.
 Merck 3776 + 50 ml 1 n Schwefelsäure
 ad 1 l Aqua bidest.
- Glucose Standardlösung (Boehringer Glucose 9,1 mg/ml)

Theorie der Methode

Reduzierende Substanzen verwandeln $K_3 (Fe (CN)_6)$ unter geeigneten Bedingungen in $K_4 (Fe (CN)_6)$. Dieses kann mit Hilfe von Fe^{3+} als "Berliner Blau" nachgewiesen werden. Unter geeigneten Bedingungen vermögen auch Zucker diese Reduktion durchzuführen. Als besonders günstig hat sich ein pH 10,5 und ein Zusatz von CN^- als Katalysator erwiesen. Sinkt der pH-Wert unter 10,5, so erhöhen sich die Reduktionszeiten ganz wesentlich. Man muß daher darauf achten, daß saure Untersuchungslösungen vorher z.B. durch Zugabe von Natriumkarbonat abgepuffert werden. Die Methode erfaßt im Gegensatz zur Phenol- H_2SO_4 -Methode auch Aminozucker, z.B. Glucosamin. Die Reaktion wird durch alle reduzierenden und stark oxidierenden Substanzen beeinflusst. Das Natriumlaurylsulfat hat die Aufgabe, den kolloidalen Farbstoff in Lösung zu halten. Geringe Konzentrationen haben sich als nicht ausreichend erwiesen, ebenso die von HEYNS und ROLLE (30) angegebene Zugabe von 0,5 g Methylzellulose/l Lsg. III.

Am empfindlichsten ist die Methode, wenn man im Bereich von etwa 690 nm mißt. Wir zogen die von HEYNS und ROLLE (30) angegebene Messung bei 578 nm vor. Hier wirkt sich die durch das Natriumlaurylsulfat bedingte "Linksverschiebung" der Spektralkurve günstig aus.

Durchführung der Analyse

Zu 2,5 ml Untersuchungslösung gibt man vorsichtig 1 ml Lsg. I, 1 ml Lsg. II und 0,5 ml Lsg. IIa. Man stellt die Proben 15 Min. in ein kochendes Wasserbad und läßt sie dann unter fließendem Wasser bis auf ca. 20° C abkühlen. Zu den Proben läßt man nun langsam ohne Luftblasen 5 ml Lsg. III zulaufen, mischt vorsichtig, und mißt im Eppendorf-Photometer bei 578 nm gegen einen Blindwert. Zur Kontrolle wird der Blindwert gegen Luft gemessen. (Um den Blindwert herzustellen, gibt man in den Ansatz 2,5 ml Aqua bidest. und verfährt im übrigen wie oben beschrieben. Er enthält etwas reduzierende Substanz aus dem Natriumlaurylsulfat). Zur Kontrolle läßt man 2 Standardwerte mitlaufen.

Eichkurve (Abb. 7)

Es werden 0,1, 0,2, 0,3 2,0 ml Standard-Glucose (Boehringer Glucose 9,1 mg/ml) in den Ansatz gegeben und mit Aqua bidest. auf 2,5 ml aufgefüllt. Dann wird genauso verfahren, wie in der Analysenvorschrift angegeben.

Auswertung

Jede Probe hat eine bestimmte Extinktion, der man mit Hilfe der Eichkurve (Abb. 7) die zugehörige Zuckermenge zuordnen kann. Diese bezieht sich auf die Eichsubstanz Glucose.

b) Bestimmung mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode

Diese Methode wurde von DUBOIS, GILLES, HAMILTON, REBERS und SMITH (13) entwickelt und erfaßt vor allem proteingebundene Zucker, freie Zucker, Milchsäure, Glycerin und Zitronensäure, aber auch verschiedene Aminosäuren.

Material und Methodik

Benötigte Reagenzien

1. konzentrierte H_2SO_4 . p.A. 95-97 Merck 731
2. 80 %iges Phenol (80 g Phenol p.A. Merck 206 in 20 ml Aqua bidest)
3. Glucose-Standardlösung (Boehringer Glucose 9,1 mg/ml)

Theorie der Methode

Vermutlich werden die Zucker zu Furfurol-derivaten umgebaut, die dann mit Phenol unter Bildung einer orangen Farbe (λ_{max} Glucose 488-490 nm) reagieren.

Die einzelnen Zucker haben verschiedene Absorptionsmaxima. Bei Pentosen, methylierten Pentosen und Uronsäuren liegt das Absorptionsmaximum bei etwa 480 nm, bei Hexosen, Disacchariden, Oligo- und Polisacchariden einschließlich ihrer methylierten Derivate, die eine freie oder potentiell freie, reduzierende Gruppe besitzen, liegt es bei etwa 490 nm.

Durchführung der Analyse

Zu 2 ml Untersuchungslösung (etwa 15-60 μg Zucker enthaltend) geben wir mit einer Eppendorf-Pipette 50 μl 80 %iges Phenol. Wir schütteln vier mal gut durch und lassen 5 ml konzentrierte Schwefel-Säure aus einer Vollpipette mitten auf die Flüssigkeitsoberfläche fließen, damit es zu einer gleichmäßigen Verteilung der Mischungswärme kommt. Das ist sehr wichtig, da diese Wärme die für die Reaktion nötige Energie liefert. Nachdem alle Proben so behandelt sind, werden die Gläschen mit einem Schliffstopfen verschlossen und kurz geschüttelt. In einem Reagenzglasständer bleiben sie 30 Min. bei Raumtemperatur stehen. Man achte darauf, daß zwischen jedem

Gläsern ein Platz frei bleibt, um eine gleichmäßige Abkühlung zu gewährleisten.

Anschließend werden die Proben gegen einen Leerwert im Eppendorf-Photometer bei 492 nm gemessen. Zur Kontrolle wird der Leerwert gegen Luft gemessen. Außerdem läßt man zwei Standard-Werte mitlaufen.

Eichkurve (Abb. 8)

Es werden 0,1, 0,2, 0,3 1,0 ml Glucose-Standard (Boehringer-Glucose 9,1 mg/ml) in den Ansatz gegeben und auf 2 ml mit Aqua bidest. aufgefüllt. Außerdem stellt man einen Leerwert her, der keine Glucose enthält. Die Durchführung der Analyse erfolgt wie oben beschrieben.

Auswertung

An Hand der Eichkurve (Abb. 8) kann die für eine bestimmte Extinktion einer Probe zugehörige Zuckermenge abgelesen werden. Diese bezieht sich auf die Eichsubstanz Glucose.

c) Bestimmung freier Aminogruppen mit der Ninhydrin-Methode

In diesem von MOORE und STEIN (51) angegebenen Nachweis werden vor allem die Aminosäuren bestimmt.

Material und Methodik

Benötigte Reagenzien

1. Ninhydrin-Reagenz

5 g Ninhydrin p.A. Merck 6762 + 0,75 g Hydrindantin p.A. Merck 4510 in 187,5 ml Methylcellsolve Merck 859 = Äthylenglycolmonomethyläther unter Stickstoffbegasung

lösen und 62,5 ml 4 n Natriumacetatpuffer pH 5,5 langsam zugeben. Dabei färbt sich die vorher gelbe Lösung dunkelrot. Die Lösung wird mit Stickstoff begast und in braunen Flaschen im Kühlschrank aufbewahrt.

2. Natriumacetatpuffer pH 5,5

272 g Natriumacetat $3 \text{ H}_2\text{O}$ Merck 6267 p.A. in 200 ml Aqua bidest. lösen. Ein heißes Wasserbad beschleunigt die Lösung. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur 50 ml Eisessig Merck 90063 p.A. zugeben und mit Aqua bidest. auf 500 ml auffüllen. Der pH-Wert der Lösung soll $5,51 \pm 0,03$ sein. (Gegebenenfalls mit festem NaOH ($0,5 \text{ g} \hat{=} 0,04 \text{ pH}$) nachstellen). Puffer mit N_2 begasen und im Kühlschrank aufbewahren.

3. Leucin-Standard

1,3115 g Iso-Leucin (CHR Fluka AG Buchs SG) in 1 l Aqua bidest. lösen (= Standard-Konzentrat). Davon 40 ml mit Aqua bidest. auf 1 l auffüllen (= Leucin-Standard). Er enthält $0,04 \mu\text{Mol/ml}$ und wird bei -21°C aufbewahrt.

4. 50 %iges Äthanol

Man mischt 500 ml Äthanol (Alkohol 96 % vergällt) mit 500 ml Aqua bidest. (Die Lösung ist nicht genau 50 %ig).

Theorie der Methode

"Ninhydrin (1,2,3-Triketohydrindenhydrat) gibt beim Kochen in neutraler oder saurer Lösung beim Vorhandensein irgendwelcher $-\text{NH}_2$ enthaltender Verbindungen einen blau-violetten Farbstoff." (AEBI (1), s. Abb. 9). Als NH_2 -Spender wirken in diesem Falle Aminosäuren, die fast

alle eine gleiche Färbung bewirken. Nur Prolin und Hydroxiprolin geben eine gelbe Farbe. Während die blauviolette Farbe bei 578 nm gemessen wird, muß man die gelbe Lösung von Prolin und Hydroxiprolin bei 440 nm messen.

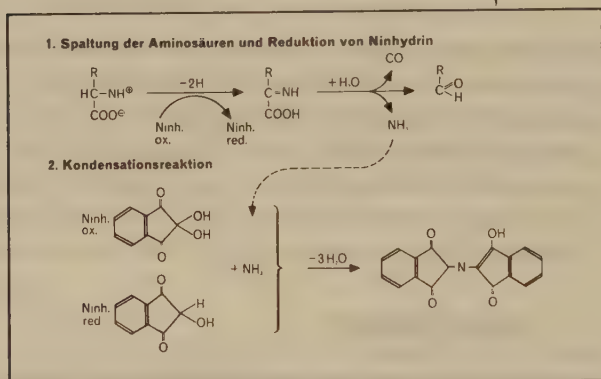


Abb. 9 Reaktionsmechanismus n. Aebi

Zur quantitativen Bestimmung kann sowohl der gebildete Farbstoff als auch das freigesetzte CO₂ dienen. Diese Reaktion kann besonders durch Ammoniak und alle aminogruppenhaltigen Substanzen beeinträchtigt werden.

Durchführung der Analyse

Zu 0,2 ml Untersuchungslösung und 0,8 ml Aqua bidest. gibt man 1 ml Ninhydrinreagenz (nach Gebrauch sofort mit N₂ begasen und kühl stellen). Die Proben werden geschüttelt und mit einem Schliffstopfen verschlossen für 15 Min. in ein kochendes Wasserbad gestellt. Anschließend kühlen wir die Proben in einem Eisbad auf 5° C ab und füllen mit 50 %igem Äthanol auf 10 ml auf. Die Proben werden nach vorsichtigem Schütteln bei 578 nm gegen einen

Blindwert gemessen. Zur Kontrolle wird der Blindwert gegen Luft gemessen. Auch hier lassen wir vorsichtshalber 2 Standardwerte mitlaufen.

Eichkurve (Abb. 10)

Wir geben 0,1, 0,2, 0,3 1,0 ml Leucinstandard, der 0,4 $\mu\text{Mol/ml}$ enthält, in den jeweiligen Ansatz und füllen mit Aqua bidest. auf 1 ml auf. Der Blindwert enthält nur Aqua bidest. und die übrigen Reagenzien. Die Verdünnungsreihe wird in der oben beschriebenen Vorschrift behandelt.

Auswertung

Mit Hilfe der erstellten Eichkurve (Abb. 10) kann die quantitative Bestimmung der Aminosäuren/0,2 ml Untersuchungsmaterial erfolgen.

d) Bestimmung der Milchsäure am gepoolten Material

Die Durchführung der Analyse erfolgte nach den Angaben von BARKER (3).

Material und Methodik

Benötigte Reagenzien

1. 4 %iges $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
2. konzentrierte H_2SO_4
3. 1,5 g p-Hydroxyphenyl (= p-Phenyl-Phenol)
in 100 ml 4 n NaOH-Lösung filtrieren
4. Milchsäurestandard: 1 mg Milchsäure (Merck 366)/ml
(Protein und Glucose müssen aus der Lösung eliminiert werden).

Theorie und Methode

Die Milchsäure wird durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure in Acetaldehyd überführt. Dieser wird mit p-Phenyl-Phenol versetzt und im Beckmann-Photometer bei 560 nm quantitativ bestimmt.

Durchführung der Analyse

Zu 1 ml Untersuchungsmaterial (ca. 2-20 µg Milchsäure/ml) gibt man 50 µl 4 %ige $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ -Lsg. Im Eisbad wird 6 ml konzentrierte H_2SO_4 zugegeben. Anschließend werden die Proben 5 Min. in ein kochendes Wasserbad gestellt. Nach Abkühlen auf 20° C werden 50 µl 1,5 %ige p-Phenyl-Phenol-Lsg. zugegeben, die Proben gut geschüttelt und im Wasserbad bei 30° C stehen gelassen. Um ungelöstes p-Phenyl-Phenol zu lösen, stellt man die Proben nochmals 90 sec in ein kochendes Wasserbad, kühlt sie dann ab und mißt im Photometer (Beckmann DK 2 A) bei 560 nm gegen einen Blindwert.

Eichkurve (Abb. 11)

Die Verdünnungsreihe stellt sich nur im Bereich von 0-5 µl Milchsäure/Ansatz tendentiell als Gerade dar. Da keine direkte Proportionalität zwischen Extinktion und Milchsäurekonzentration besteht, muß man den Milchsäuregehalt der verschiedenen Proben an Hand der angefertigten Eichkurve bestimmen.

Wir geben 5, 10, 20 und 50 µl Milchsäurestandard in den Ansatz und füllen auf 1 ml mit Aqua bidest. auf. Dann wird so verfahren, wie in der Analyse beschrieben.

Auswertung

An Hand der Eichkurve (Abb. 11) können wir die für eine bestimmte Extinktion zugehörige Milchsäuremenge/1 ml Ansatz ablesen.

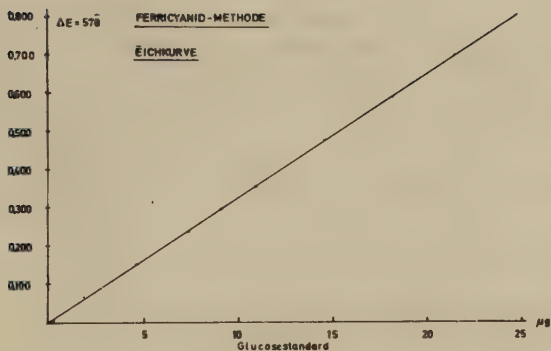


Abb. 7

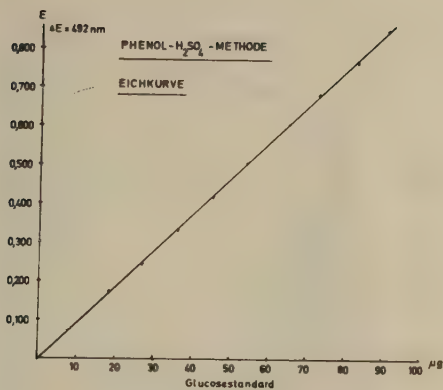


Abb. 8

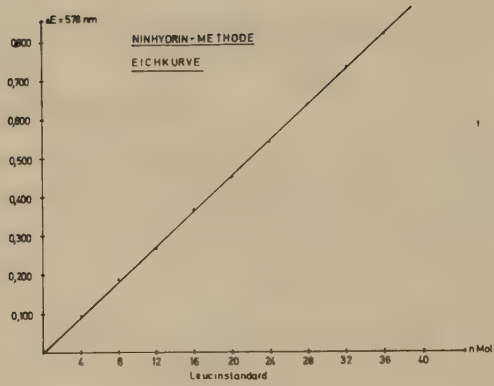


Abb. 10

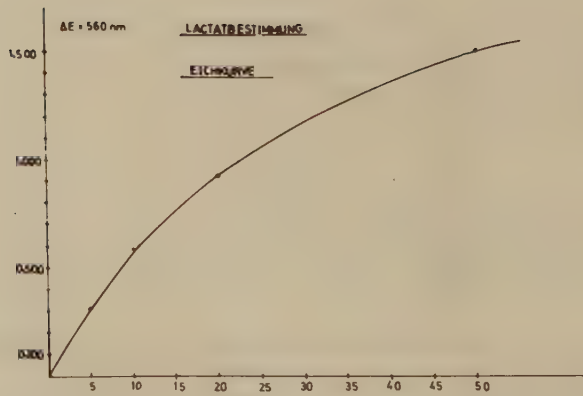


Abb. 11

4. Bestimmung der Alkalineneutralisationszeit nach BURCKHARDT

Material und Methodik

Wir benötigen:

1. eine 1/80 n NaOH-Lsg., die vor Gebrauch stets frisch aus einer 1 n NaOH-Lsg. hergestellt wird
2. eine 0,5 %ige alkoholische Phenolphthaleinlsg. als Indikator
3. eine Tropfpipette (Pasteurpipette) mit konstanter Tropfengröße
4. einen Glasblock mit der Seitenlänge 3 x 2 cm
5. eine Stoppuhr.

Die Versuche werden auf der rechten Unterarminnen-seite etwas oberhalb des Handgelenkes durchgeführt. Wir markieren hier mit einem Stift ein Feld von 2,5 x 3,5 cm. (Abb. 12). Auf dieses Feld lassen wir je einen Tropfen

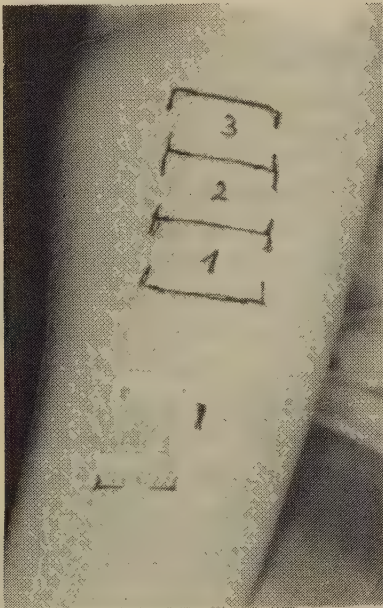


Abb. 12 Bestimmung der Alkalineneutralisationszeit auf dem Feld mit dem Glasblock auf der rechten Unterarminnenseite

Natronlauge und Phenolphthaleinlsg. fallen und bedecken sie mit dem Glasblock. Durch Vermischen der zunächst farblosen Flüssigkeiten entsteht eine rote Farbe, die unter Einwirkung der Säuren der Haut bei Neutralisation (pH 8,3) verschwindet. Um eine gute Durchmischung der Flüssigkeit zu gewährleisten, wird der Glasblock alle 30 sec bewegt und wieder ohne Druck auf die Hautfläche gelegt. Nach Entfärbung der Natronlauge trocknen wir die Hautstelle mit Fließpapier und wiederholen den Versuch. Um die Alkalineutralisationszeit zu bestimmen, messen wir die Zeit, die vom Auftropfen der Lösungen bis zu deren Entfärbung benötigt wird. Wir führen insgesamt 10 Messungen durch (7).

5. Bestimmung der Alkaliresistenz nach BURCKHARDT

Material und Methodik

Wir benötigen:

1. eine 1/2 n NaOH-Lsg.
2. drei Glasblöcke mit der Seitenlänge 3 x 2 cm
3. eine Pasteurpipette
4. eine Stoppuhr

Wir markieren im mittleren Drittel auf der Innenseite des rechten Unterarms drei nebeneinander liegende Felder von 2,5 x 3,5 cm und lassen aus der Pasteurpipette auf jedes Feld einen Tropfen 1/2 n Natronlauge fallen. Die Tropfen bedecken wir mit den drei Glasblöcken. Nach 10 Min. nehmen wir die Glasblöcke ab, trocknen die Hautfelder mit Fließpapier und applizieren auf das zweite und dritte Feld je einen Tropfen, die auf die gleiche Weise mit den Glasblöcken zugedeckt werden. Wiederum nach 10 Min. entfernen wir diese beiden Glassteine, trocknen die Haut und versehen

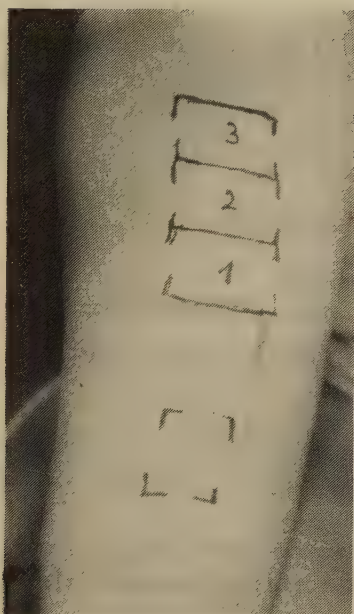


Abb. 13 Bestimmung der Alkaliresistenz auf den Feldern
1 - 3

das dritte Feld mit einem Tropfen, der ebenso für 10 Min. bedeckt wird. Es zeigt sich nun, ob die Haut auf einen, auf zwei oder auf drei Tropfen in Form von Rötungen, Knötchen oder Bläschen reagiert. Meist ist die Reaktion mit Jucken und Brennen verbunden. Oft tritt auch keine Reaktion ein. (7)

6. Messung der Benetzbarkeit der Haut mit Wasser nach der Methode von SCHNEIDER und SCHULEIT

Wir führen diesen Versuch nach der ursprünglich von JACOBI (33) entwickelten und später von SCHNEIDER und SCHULEIT (59), sowie TRONNIER und JESSEN (64) modifi-

zierten Methode durch. Ein Maß für das Spreitvermögen von Flüssigkeiten auf der Haut sind demnach die durch angefärbte Lösungen benetzten Flächen in Abhängigkeit von der Zeit.

Material und Methodik

Wir benötigen:

1. eine 0,15 %ige wässrige Lösung von Methylenblau
2. eine Tropfpipette, die den Tropfen aus konstanter Höhe abgibt
3. eine Stoppuhr
4. einen Fotoapparat, der unter standardisierten Bedingungen arbeitet (gleicher Abstand, gleiche Vergrößerung).

Der Tropfen wird mittels der Tropfpipette auf der Innenseite des linken Unterarms oberhalb des Handgelenkes appliziert und nach 60 sec fotografiert (Abb. 14).

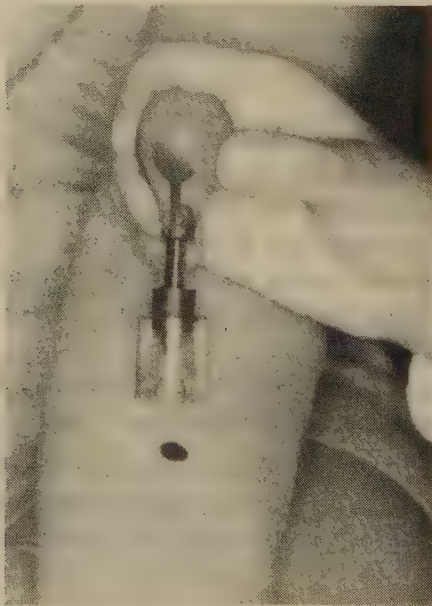


Abb. 14 Applikation des Tropfens mit Hilfe der Tropfpipette

Wir achten dabei darauf, daß der Arm ruhig gestellt ist, um die Spreitung nicht zu beeinträchtigen. Zur quantitativen Auswertung bestimmt man die Ausdehnung des Tropfens, die sich auf dem Negativ annähernd als Kreis darstellt. Man legt dazu die Negative auf Millimeterpapier und zählt die Kästchen aus.

III. Statistische Auswertung

Die statistischen Vergleiche zwischen den beiden Kollektiven wurden über den U-Test nach WILCOXON, MANN und WHITNEY vorgenommen; teilweise kam auch die Varianzanalyse zur Anwendung. Bei der Alkaliresistenzprüfung wurde der FISHER-Test angewandt (15, 57).

C. Ergebnisse

1. Gravimetrische Bestimmung der Hautoberflächenlipide

Die durchschnittlichen Hautoberflächenlipidmengen betrugen bei dem Candidiasis-Kollektiv 1,201 mg/16cm² (s = 0,812) und bei dem Vergleichskollektiv 1,524mg/16 cm² (s = 0,897). Dieser Unterschied erwies sich nicht als signifikant. Die zugehörigen Fallzahlen waren 20 bzw. 38.

Tab. 1:

Gesamtauswaage der Hautoberflächenlipide bei dem Candidiasis-Kollektiv und dem Vergleichskollektiv:

<u>Candidiasis-Kollektiv</u>			<u>Vergleichskollektiv</u>		
m	s	n	m	s	n
1,201	0,812	20	1,524	0,897	38

m = Mittelwert der Lipidmenge (mg/16cm²)

s = Standardabweichung

n = Anzahl der Versuchspersonen

Einzelergebnisse siehe Tab. 6 (im Anhang)

2. Dünnschichtchromatographische Analyse der Hautoberflächenlipide

Die Ergebnisse der dünnschichtchromatographischen Analysen finden sich in Tab. 2. Signifikant war der Unterschied zwischen den beiden Kollektiven bezüglich des Squalen ($\alpha = 2\%$).

Die Fallzahlen waren 14 bzw. 35.

Tab. 2:

Mittelwerte (m) und Standardabweichungen (s) der prozentualen Anteile der einzelnen Lipidfraktionen bei dem Candidiasiskollektiv und dem Vergleichskollektiv:

	<u>Candidiasiskollektiv</u>		<u>Vergleichskollektiv</u>	
	m	s	m	s
freies Cholesterin	8,68	2,64	8,81	3,72
freie Fettsäuren	23,21	9,21	22,21	7,25
Triglyceride	35,54	7,76	34,51	5,81
Wachs- und Cholesterin-ester	20,44	3,96	18,40	2,97
Squalen	8,05	2,43	11,15	5,70
Paraffine	4,21	2,51	4,92	3,23

Einzelergebnisse siehe Tab. 7 (im Anhang).

3. Analysen des sog. Wasserlöslichen

a) Ferricyanid-Methode

Bei dem Candidiasis-Kollektiv fand sich durchschnittlich 10,80 $\mu\text{g}/2,5$ ml Glucoseäquivalent (s = 5,21). Der entsprechende Wert bei dem Vergleichskollektiv war 9,59 $\mu\text{g}/2,5$ ml Glucoseäquivalent (s = 5,00). Die zugehörigen Fallzahlen waren 19 bzw. 39. Die Mittelwertsdifferenz erwies sich nicht als signifikant.

b) Phenol-Schwefelsäure-Methode

Bei dem Candidiasis-Kollektiv waren durchschnittlich 14,32 $\mu\text{g}/2$ ml Glucoseäquivalent (s = 6,44) nachweisbar,

bei dem Vergleichskollektiv durchschnittlich $21,65 \mu\text{g}/2 \text{ ml}$ Glucoseäquivalent ($s = 9,43$). Dieser Unterschied ist signifikant ($\alpha = 1 \%$). Die Fallzahlen waren 19 bzw. 39.

Um auszuschließen, daß dieser Befund durch die Diabetiker in dem Candidiasis-Kollektiv hervorgerufen wurde, wurden die entsprechenden Mittelwerte für die Candidiasispatienten mit einem Diabetes mellitus und die Candidiasispatienten, bei denen ein Diabetes ausgeschlossen werden konnte, ermittelt. Es fanden sich bei den 5 Diabetikern durchschnittlich $12,92 \mu\text{g}$ Glucoseäquivalent ($s = 4,50$) und bei den 13 Nichtdiabetikern durchschnittlich $13,22 \mu\text{g}$ Glucoseäquivalent ($s = 5,73$). Der Unterschied zwischen dem Kollektiv der Candidiasispatienten, das sicher frei von einem Diabetes war, und dem Vergleichskollektiv war signifikant ($\alpha = 1 \%$).

c) Ninhydrin-Methode

Bei dem Candidiasis-Kollektiv bzw. bei dem Vergleichskollektiv fanden sich folgende Durchschnittswerte: $1021,7 \text{ n Mol}/1 \text{ ml}$ ($s = 762,2$) bzw. $746,0 \text{ n Mol}/1 \text{ ml}$ ($s = 360,9$) bezogen auf einen Leucinstandard. Die zugehörigen Fallzahlen waren 20 bzw. 39. Die bei den untersuchten Stichproben ermittelten Durchschnittswerte lassen an eine Erhöhung der Meßwerte bei den Candidiasis-Patienten denken. Ein statistischer Beweis dafür konnte jedoch nicht erbracht werden. Um die Bedeutung des Diabetes für diesen Befund abzugrenzen, wurden auch bezüglich dieser Meßwerte die entsprechenden Mittelwerte für die 5 Candidiasis-Patienten mit einem Diabetes mellitus und die 13 Candidiasis-Patienten, bei denen ein Diabetes ausgeschlossen werden konnte, ermittelt. Es ergaben sich folgende Durchschnittswerte: $1561,6 \text{ n Mol}/1 \text{ ml}$ ($s = 1354,7$) bzw. $853,8 \text{ n Mol}/1 \text{ ml}$ ($s = 373,6$) bezogen auf einen Leucinstandard. Der Unterschied zwischen dem Candidiasis-Kollektiv mit einem Diabetes und dem Vergleichskollektiv erwies sich nicht als signifikant.

Tab. 3:

Quantitative Bestimmung der wasserlöslichen Substanzen

	<u>Candidiasis-Kollektiv</u>			<u>Vergleichskollektiv</u>		
	m	s	n	m	s	n
a) <u>Ferricyanid-</u>	10,80	5,21	19	9,59	5,00	39
<u>Methode</u>	µg/2,5 ml			µg/2,5 ml		
b) <u>Phenol-H₂SO₄-</u>						
<u>Methode</u>						
gesamtes	14,32	6,44	20	21,65	9,43	39
Kollektiv	µg/2 ml			µg/2 ml		
Diabetiker	12,92	4,50	5			
	µg/2 ml					
Nichtdia-	13,22	5,73	13			
betiker	µg/2 ml					
c) <u>Ninhydrin-</u>						
<u>Methode</u>						
gesamt	1021,7	762,2	20	746,0	360,9	39
	n Mol/1 ml			n Mol/1 ml		
Diabetiker	1561,6	1354,7	5			
	n Mol/1 ml					
Nichtdia-	853,8	373,6	13			
betiker	n Mol/1 ml					

m = Mittelwert

s = Standardabweichung

n = Anzahl der Versuchspersonen

Einzelergebnisse siehe Tab. 8

d) Die zusätzlich an dem gepoolten Material durchgeführten Milchsäurebestimmungen erbrachten folgende Ergebnisse:
Bei dem Candidiasis-Kollektiv fanden sich im Wasserlöslichen 124 µg/1 ml. Der entsprechende Wert bei dem Ver-

gleichskollektiv war 168 $\mu\text{g}/1$ ml. Es wurde jeweils Material von 17 Versuchspersonen gepoolt. Diese Werte lassen selbstverständlich nur die Größenordnung der Milchsäurekonzentration abschätzen.

4. Bestimmung der Alkalineutralisationszeit

Bewertet wurde in jedem Fall die durchschnittliche Alkalineutralisationszeit bei 10 hintereinander erfolgten Bestimmungen. Die Mittelwerte waren bei dem Candidiasiskollektiv 139,31 sec ($s = 71,86$) und bei dem Vergleichskollektiv 134,21 sec ($s = 73,82$). Die zugehörigen Fallzahlen waren 18 bzw. 37. Dieser Unterschied war nicht signifikant. Einzelergebnisse siehe Tab. 9.

In Abb. 15 sind die Einzelmessungen des Patientenkollektivs und des Vergleichskollektivs dargestellt. Signifikante Unterschiede ergaben sich jedoch auch nicht bei Bewertung der Einzelmessergebnisse.

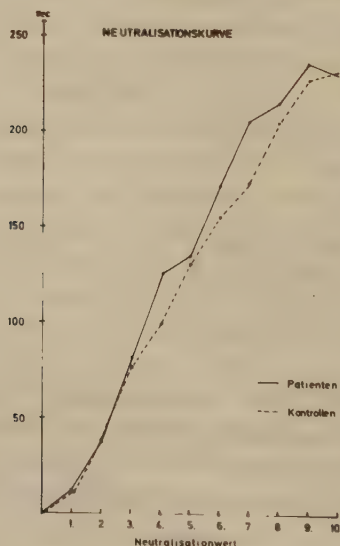


Abb. 15 Neutralisationskurven der Candidiasispatienten und der Vergleichspersonen

5. Bestimmung der Alkaliresistenz

Es wurde registriert, ob ein Tropfen nach 10 Min., zwei Tropfen nach 20 Min. oder drei Tropfen nach 30 Min. eine Reaktion hervorgerufen haben, bzw. nicht hervorgerufen haben. Vorübergehende reflektorische Erytheme wurden nicht berücksichtigt.

Tab. 4:

	<u>Candidiasis-</u> <u>Kollektiv</u> (n = 19)	<u>Vergleichs-</u> <u>kollektiv</u> (n = 38)
1. Reaktion nach 10 Min. bei	6 Personen	6 Personen
1. Reaktion nach 20 Min. bei	6 "	20 "
1. Reaktion nach 30 Min. bei	1 "	3 "
keine Reaktion bei	6 "	9 "

Bei der Auswertung mit dem FISCHER-Test (15) wurde aber lediglich bei den beiden Kollektiven die Anzahl der Fälle bewertet, bei denen eine 10-minütige Alkali-einwirkung zu einer Reaktion geführt hat. Bei dem Candidiasis-Kollektiv waren es 6 bzw. 13 Fälle, bei dem Vergleichskollektiv 6 bzw. 32 Fälle. Signifikante Unterschiede waren nicht vorhanden.

Einzelergebnisse der Alkaliresistenzbestimmung siehe Tab. 10.

6. Messung der Benetzbarkeit der Haut mit Wasser

Die Tropfengröße auf der Haut war bei dem Candidiasis-Kollektiv durchschnittlich $68,08 \text{ mm}^2$ ($s = 20,42$) und bei dem Vergleichskollektiv durchschnittlich $69,29 \text{ mm}^2$ ($s = 20,45$). Dieser Unterschied erwies sich nicht als signifikant. Die zugehörigen Fallzahlen waren 13 bzw. 35.

Tab. 5:

Mittelwert (m) und Standardabweichung (s) der Spreitung (mm^2) eines Methylenblau-Tropfens auf der Haut bei dem Candidiasis-Kollektiv und dem Vergleichskollektiv. (n = Anzahl der Versuchspersonen).

<u>Candidiasis-Kollektiv</u>			<u>Vergleichskollektiv</u>		
m	s	n	m	s	n
68,08	20,42	13	69,29	20,45	35

Die Einzelergebnisse der Wasserspreitung liegen in Tab. 10 vor.

Tab. 6:

Einzelergebnisse der Lipidauswaagen

A) bei dem Candidiasis-Kollektiv

<u>Nr.</u>	<u>J</u>	<u>G</u>	<u>D</u>	<u>Menge (mg)</u>
1	80	w		0,469
2	78	w		0,384
3	77	w		0,443
4	75	w	D	0,387
5	73	w		2,007
6	71	w		1,290
7	67	w		0,147
8	66	w		0,621
9	66	w		0,805
10	66	w		1,452
11	65	w		1,443
12	62	w	D	2,013
13	51	m	D	0,570
14	49	w	D	0,714
15	41	m	D	1,314
16	40	m		0,993
17	24	m		1,617
18	23	m		1,668
19	22	m		3,373
20	21	m		2,317

B) bei dem Vergleichskollektiv

1	81	w		0,195
2	77	w		1,710
3	76	w		0,093
4	75	w		2,153
5	74	w		2,141
6	72	w		0,257
7	72	w		0,475
8	72	w		1,434
9	72	w		3,490
10	68	w		1,663

<u>Nr.</u>	<u>J</u>	<u>G</u>	<u>Menge (mg)</u>
11	68	w	3,142
12	68	w	0,929
13	68	w	0,767
14	67	w	0,508
15	66	w	0,701
16	65	w	1,090
17	64	w	1,435
18	63	w	1,564
19	63	w	0,585
20	63	w	1,474
21	63	w	1,979
22	62	w	1,011
23	62	w	0,150
24	62	w	1,856
25	55	w	1,328
26	53	m	0,748
27	46	m	2,669
28	45	w	-
29	43	m	2,171
30	41	m	1,618
31	40	m	1,203
32	35	m	1,078
33	28	m	1,540
34	27	m	3,498
35	25	m	2,170
36	25	m	1,804
37	24	m	2,368
38	24	m	2,107
39	20	m	2,799

Erläuterung der Abkürzungen:

Nr. = lfd. Nummer der Versuchspersonen

J = Alter der Versuchspersonen (Jahre)

G = Geschlecht (m = männlich, w = weiblich)

D = Candidiasispatienten mit Diabetes mellitus

Tab. 7:

Prozentuale Verteilung der Lipidfraktionen (Einzel-
ergebnisse)

A) beim Candidiasis-Kollektiv

Nr.	J	G	D	Ch	FFA	TG	WE	Sq	Pa
3	77	w		13,0	16,1	45,05	14,7	5,15	5,9
4	75	w	D	12,2	19,35	38,55	12,65	7,9	9,35
5	73	w		5,55	15,3	35,8	25,3	14,15	3,9
6	71	w		8,05	33,8	25,75	23,35	5,55	3,55
9	66	w		12,3	4,7	47,15	23,45	8,15	4,25
11	65	w		9,05	22,75	36,8	18,3	10,4	2,65
12	62	w	D	9,7	18,0	45,0	16,5	7,0	3,85
13	51	m	D	6,1	27,85	33,4	24,4	6,5	1,8
14	49	w	D	9,4	25,15	32,95	17,1	5,8	9,5
15	41	m	D	6,9	21,1	39,0	21,7	7,1	4,2
16	40	m		4,2	17,85	39,5	24,3	10,7	3,4
17	24	m		6,6	38,5	23,65	21,75	8,15	1,2
19	22	m		9,53	27,5	32,05	20,1	9,1	2,15
20	21	m		8,75	36,7	22,5	22,35	6,75	3,0

B) beim Vergleichskollektiv

Nr.	J	G		Ch	FFA	TG	WE	Sq	Pa
1	81	w		15,9	10,05	38,05	13,2	5,6	17,5
2	77	w		14,01	16,3	39,6	20,95	6,15	3,05
3	76	w		10,4	22,55	31,7	18,1	9,8	7,45
5	74	w		8,62	10,79	43,75	16,77	6,02	14,06
6	72	w		13,05	18,05	39,55	15,95	7,05	6,05
8	72	w		3,83	38,98	17,81	24,88	8,58	5,91
9	72	w		7,29	26,80	36,97	19,73	7,42	1,79
10	68	w		2,85	32,7	33,25	16,15	8,4	6,55
11	68	w		5,45	31,25	25,14	22,08	11,95	4,13
12	68	w		11,11	23,9	30,52	20,87	10,58	3,02
13	68	w		4,22	13,86	37,88	15,37	25,97	2,7
14	67	w		15,35	28,35	30,0	10,3	7,35	8,7
15	66	w		14,47	25,67	30,66	18,1	5,46	5,64

Nr.	J	G	Ch	FFA	TG	WE	Sq	Pa
16	65	w	11,5	20,03	38,91	20,25	5,55	3,76
17	64	w	3,82	11,28	41,74	18,17	21,99	3,0
18	63	w	3,58	13,32	38,75	16,46	25,31	2,57
19	63	w	11,2	18,44	33,36	20,04	9,94	7,02
20	63	w	4,28	15,16	41,94	15,77	20,44	2,41
21	63	w	3,67	12,23	40,95	18,47	21,84	2,85
22	62	w	11,88	25,1	29,9	16,8	10,7	5,33
24	62	w	11,61	20,52	34,69	20,37	9,76	3,06
25	55	w	10,25	30,25	34,75	16,35	3,15	5,15
26	53	m	13,11	23,18	32,26	18,0	8,28	5,16
27	46	m	11,05	32,1	26,0	13,3	12,1	5,33
29	43	m	9,8	20,05	40,2	17,3	10,15	1,75
30	41	m	7,22	28,4	28,3	18,2	12,0	5,67
31	40	m	8,6	19,9	39,7	18,6	9,4	3,8
32	35	m	6,16	23,7	34,0	18,5	12,2	5,29
33	28	m	7,67	21,9	37,1	18,6	11,7	2,82
34	27	m	5,36	17,6	37,1	21,4	14,1	4,18
35	25	m	9,68	19,7	37,4	18,0	11,8	3,29
36	25	m	5,68	15,9	38,4	20,8	14,7	4,37
37	24	m	6,12	31,2	25,6	23,3	11,0	2,68
38	24	m	9,61	31,2	27,4	19,8	9,8	2,0
39	20	m	9,6	26,6	34,3	22,7	3,6	3,8

Erklärung der Abkürzungen:

Nr.	=	lfd. Nummer der Versuchspersonen
J	=	Alter (Jahre)
G	=	Geschlecht (w = weiblich, m = männlich)
D	=	Candidiasis-Patienten mit Diabetes mellitus
Ch	=	Cholesterin
FFA	=	freie Fettsäuren
TG	=	Triglyceride
WE	=	Wachsester
Sq	=	Squalen
Pa	=	Paraffin

Tab. 8:

Einzelergebnisse der quantitativen Bestimmung des
sog. Wasserlöslichen

A) beim Candidiasis-Kollektiv

Nr.	J	G	D	Ferricyanid- Methode (μg)	Phenol- H_2SO_4 - Methode (μg)	Ninhydrin- Methode (n Mol)
1	80	w		7,83	16,5	710
2	78	w		11,03	8,8	750
3	77	w		2,81	15,5	445
4	75	w	D	5,60	14,0	1410
5	73	w		15,83	3,2	560
6	71	w		16,55	19,8	1270
7	67	w		7,42	13,7	800
8	66	w		13,30	20,3	1130
9	66	w		7,60	6,0	745
10	66	w		13,45	18,0	985
11	65	w		11,63	19,3	595
12	62	w	D	13,08	19,7	3400
13	51	m	D	3,87	13,2	340
14	49	w	D	18,00	9,4	2410
15	41	m	D	-	8,3	243
16	40	m		4,48	12,7	390
17	24	m		21,83	30,5	930
18	23	m		12,60	14,7	1040
19	22	m		12,28	17,7	550
20	21	m		6,00	5,0	1730

B) bei dem Vergleichskollektiv

1	81	w		6,96	12,5	355
2	77	w		7,85	20,4	305
3	76	w		6,08	11,4	435
4	75	w		23,32	15,3	1150
5	74	w		7,56	18,9	1182
6	72	w		5,00	8,5	695
7	72	w		17,77	32,7	1330

Nr.	J	G	Ferricyanid- Methode (μg)	Phenol-H ₂ -SO ₄ - Methode (μg)	Ninhydrin- Methode (n Mo)
8	72	w	8,82	24,5	1200
9	72	w	10,31	10,2	1012
10	68	w	9,78	13,3	480
11	68	w	4,72	22,8	655
12	68	w	6,83	29,1	1122
13	68	w	3,79	36,7	839
14	67	w	9,87	19,9	295
15	66	w	7,25	33,7	1035
16	65	w	4,92	10,7	1100
17	64	w	11,46	28,9	844
18	63	w	9,83	38,0	896
19	63	w	4,38	12,8	637
20	63	w	6,63	24,9	890
21	63	w	12,16	31,0	821
22	62	w	6,43	14,8	755
23	62	w	22,80	29,8	185
24	62	w	11,32	9,9	1828
25	55	w	7,52	11,2	385
26	53	m	6,18	39,9	910
27	46	m	14,83	43,6	965
28	45	w	6,24	19,0	1046
29	43	m	8,50	28,5	540
30	41	m	8,93	18,5	820
31	40	m	6,03	16,6	490
32	35	m	6,67	16,7	304
33	28	m	5,95	20,5	635
34	27	m	10,20	26,2	830
35	25	m	10,30	12,0	240
36	25	m	4,30	11,7	342
37	24	m	17,82	28,0	480
38	24	m	14,55	15,9	277
39	20	m	20,00	25,3	785

Erklärung der Abkürzungen:

Nr. = laufende Nummer der Versuchspersonen
 J = Alter der Versuchspersonen (Jahre)
 G = Geschlecht (w = weiblich, m = männlich)
 D = Candidiasis-Patienten mit Diabetes mellitus

Tab. 9:

Einzelergebnisse der Alkalineutralisation (sec)

A) bei dem Candidiasis-Kollektiv

Nr.	J	G	D	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	80	w		13,5	34,0	61,2	109,5	130,5	197,0	205,3	244,5	352	204
2	78	w		19,5	66,2	143,5	94,1	76,0	145,2	193,2	195,2	246,9	175,2
3	77	w		6,0	16,0	47,0	57,5	105,0	161,0	181,0	142,7	210,0	220,0
4	75	w	D	10,9	26,7	82,8	127,6	72,8	61,0	141,4	226,6	203,9	135,4
5	73	w		21,5	131,0	198,7	298,5	298,8	355,0	410,0	401,0	392,0	449,0
6	71	w		6,0	16,0	25,0	61,0	103,0	124,0	167,0	111,0	171,0	229,0
7	67	w		7,6	11,9	38,7	118,5	108,4	132,2	203,0	127,1	230,1	184,6
8	66	w		5,5	11,0	22,6	12,2	35,4	55,9	73,6	58,9	52,2	31,4
9	66	w		6,0	21,5	79,9	101,5	67,6	135,0	165,5	151,5	176,5	203,0
10	66	w		6,4	21,4	77,2	136,5	175,9	195,6	239,2	246,5	316,8	273,2
11	65	w		6,8	20,1	63,8	199,0	247,6	279,9	341,5	367,5	397,7	390,6
12	62	w	D	6,0	12,0	16,0	12,0	38,0	17,0	41,0	46,0	52,0	73,0
13	51	m	D	6,0	19,2	43,0	90,3	87,6	121,8	146,8	147,5	187,1	241,3
14	49	w	D	8,5	24,5	62,4	103,2	106,6	118,2	109,8	143,6	147,6	154,2
15	41	m	D	6,5	41,5	90,7	126,9	149,0	241,4	250,0	248,8	382,0	298,9
16	40	m		11,0	39,0	52,0	96,6	139,4	162,5	176,5	170,2	205,8	227,2
17	24	m		26,0	29,0	145,0	240,0	280,0	360,0	378,0	540,0	-	-
18	23	m		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	22	m		4,0	10,0	21,4	38,1	65,5	175,0	146,1	174,4	147,4	219,5
20	21	m		54,4	158,8	271,6	363,3	278,0	223,5	349,6	338,8	372,3	421,0

B) bei dem Vergleichskollektiv

1	81	w		13,5	99,0	192,0	146,0	37,0	180,0	181,0	203,0	276,0	305,0
2	77	w		7,5	28,0	54,5	45,5	83,0	139,5	165,5	126,5	236,5	247,8
3	76	w		7,5	16,5	23,0	32,5	96,2	99,5	201,5	151,0	164,5	253,0
4	75	w		11,5	54,0	136,0	162,5	215,0	252,5	228,0	295,5	342,0	251,5
5	74	w		12,0	54,0	136,0	163,0	215,0	253,0	228,0	296,0	342,0	252,0
6	72	w		9,2	34,5	69,7	187,5	213,5	271,5	250,7	224,3	261,0	150,0
7	72	w		2,0	4,0	5,0	12,5	16,5	23,5	15,0	41,5	37,0	33,0
8	72	w		2,0	4,0	5,0	13,0	17,0	24,0	15,2	42,1	37,3	41,5
9	72	w		5,0	16,0	26,0	61,0	82,0	107,0	180,0	235,0	301,0	320,0
10	68	w		10,6	50,5	116,6	89,8	147,6	223,2	174,8	248,2	240,5	233,0

Nr.	J	G	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
11	68	w	4,0	11,0	34,0	56,0	74,0	71,0	59,0	82,0	67,0	87,0
12	68	w	11,0	75,0	106,0	218,0	339,0	262,0	310,0	391,0	430,0	413,0
13	68	w	10,0	59,0	105,0	181,0	251,0	287,0	340,0	408,0	464,0	522,0
14	67	w	6,5	39,0	60,0	95,0	116,0	128,0	163,5	140,5	149,0	157,5
15	66	w	6,0	17,0	46,0	41,0	93,0	111,0	166,0	229,0	295,0	245,0
16	65	w	5,0	19,0	52,0	136,0	177,0	136,0	252,0	371,0	472,0	511,0
17	64	w	9,0	49,0	102,0	171,0	225,0	287,0	324,0	379,0	434,0	442,0
18	63	w	8,0	24,0	96,0	128,0	160,0	217,0	292,0	354,0	418,0	436,0
19	63	w	7,0	17,0	25,0	53,0	69,0	91,0	77,0	52,0	79,0	98,0
20	63	w	6,0	16,0	86,0	105,0	131,0	157,0	116,0	147,0	182,0	204,0
21	63	w	6,0	8,0	21,0	57,0	78,0	87,0	107,0	147,0	168,0	186,0
22	62	w	13,5	22,0	50,5	22,0	37,0	35,0	20,5	157,0	88,0	87,0
23	62	w	10,3	57,5	144,1	184,7	229,0	185,4	116,2	205,5	209,0	104,2
24	62	w	10,0	26,0	48,0	93,0	123,0	178,0	201,0	302,0	358,0	406,0
25	55	w	4,0	13,0	20,0	32,5	31,5	62,0	68,5	42,5	64,5	116,5
26	53	m	5,0	8,0	11,0	30,0	49,0	114,0	102,0	170,0	216,0	301,0
27	46	m	10,5	23,5	88,5	87,5	163,0	-	-	-	-	-
28	45	m	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	43	m	6,0	20,0	70,5	131,0	189,5	151,5	286,0	262,5	247,0	220,0
30	41	m	23,0	19,0	21,5	39,0	39,0	63,0	75,0	105,0	120,0	107,0
31	40	m	64,5	210,0	234,0	299,0	274,0	310,0	272,0	363,5	333,0	302,5
32	35	m	7,0	15,0	15,0	10,0	11,6	17,5	21,5	20,0	32,5	56,0
33	28	m	7,0	7,0	8,5	12,0	14,5	12,0	14,5	13,0	22,0	29,0
34	27	m	13,0	35,0	44,0	91,0	117,5	53,5	39,0	38,0	48,5	59,0
35	29	m	6,0	18,5	38,0	95,0	163,0	233,0	255,0	279,0	330,0	387,0
36	25	m	40,0	153,0	154,0	203,0	205,0	193,0	240,0	291,0	277,0	294,0
37	24	m	19,0	50,0	154,0	173,5	226,5	211,5	344,0	229,0	248,0	342,0
38	24	m	20,0	77,0	38,0	82,0	137,0	253,0	187,0	273,0	178,0	166,0
39	20	m	5,5	20,0	48,5	51,5	125,0	187,0	261,0	260,0	254,0	190,0

Erläuterung der Abkürzungen:

Nr. = laufende Nummer der Versuchspersonen

J = Alter der Versuchspersonen (Jahre)

G = Geschlecht (w = weiblich, m = männlich)

D = Patienten mit Diabetes

1, 2, 3 usw. = die 10 Messungen der Alkalineneutralisationszeit

Taf. 10:

Einzelergebnisse der Alkaliresistenzbestimmung und
der Wasserspreitung

A) bei dem Candidiasis-Kollektiv

Nr.	J	G	D	1	2	3	φ	Spreitung (mm ²)
1	80	w					x	92
2	78	w			x			-
3	77	w			x			57
4	75	w	D	x				64
5	73	w		x				-
6	71	w			x			64
7	67	w					x	58
8	66	w		x				52
9	66	w					x	48
10	66	w		x				-
11	65	w					x	-
12	62	w	D		x			40
13	51	m	D				x	112
14	49	w	D	x				70
15	41	m	D				x	61
16	40	m			x			72
17	24	m		x				-
18	23	m		-	-	-	-	-
19	22	m			x			-
20	21	m				x		95

B) bei dem Vergleichskollektiv

1	81	w			x			48
2	77	w			x			39
3	76	w			x			83
4	75	w			x			60
5	74	w			x			68
6	72	w			x			-
7	72	w			x			58
8	72	w			x			70
9	72	w			x			53
10	68	w		x				77

Nr.	J	G	1	2	3	φ	Spreitung (mm ²)
11	68	w				x	100
12	68	w		x			40
13	68	w		x			78
14	67	w				x	62
15	66	w				x	90
16	65	w	x				58
17	64	w		x			65
18	63	w		x			61
19	63	w				x	91
20	63	w				x	84
21	63	w				x	53
22	62	w			x		113
23	62	w	x				49
24	62	w				x	109
25	55	w				x	74
26	53	m		x			63
27	46	m	x				109
28	45	w	-	-	-	-	-
29	43	m	x				50
30	41	m			x		80
31	40	m		x			58
32	35	m	x				43
33	28	m		x			-
34	27	m		x			100
35	25	m		x			-
36	25	m		x			59
37	24	m		x			49
38	24	m			x		54
39	20	m				x	77

Erläuterung der Abkürzungen:

Nr. = lfd. Nummer der Versuchspersonen

J = Alter der Versuchspersonen (Jahre)

G = Geschlecht (w = weiblich, m = männlich)

1, 2, 3 = 1. Reaktion nach 10 Min. bei 1 Tropfen 1/2 n NaOH
bzw. 1. Reaktion nach 20 Min. mit 2 Tropfen NaOH etc.

φ = keine Reaktion nach Einwirkung der Natronlauge

D. Diskussion der Ergebnisse

Die Candidiasis unterscheidet sich von den meisten anderen Infektionskrankheiten der Haut in verschiedener Hinsicht. Während die meisten anderen Hautinfektionen sich primär auf der Haut manifestieren, geht die Candidiasis vielfach von den Schleimhäuten aus. Ein weiterer wichtiger nur für die Candidiasis geltender Gesichtspunkt ist die Infektionsmöglichkeit vom Intestinaltrakt her. Schließlich handelt es sich bei der Candidiasis um eine vielfach erst sekundär auf dem Boden anderer Hautkrankheiten entstehende Infektionskrankheit, was bei den übrigen Hautinfektionen eher selten ist (5, 12, 24, 25, 60).

Diese klinischen Angaben lassen von vornherein vermuten, daß die Neigung eines Patienten, an einer Candidiasis zu erkranken, nur zum Teil von Faktoren abhängt, die im stratum corneum lokalisiert sind.

In der Literatur wird von zahlreichen Autoren darauf hingewiesen, daß ein Diabetes mellitus, eine vorausgegangene Therapie mit Corticosteroiden, Antibiotika oder Immunsuppressiva, eine Gravidität, eine Schädigung der Immunabwehr oder eine endokrinologische Erkrankung, sowie Avitaminosen eine Candidiasis begünstigen. Neben diesen endogenen Faktoren werden lokale Faktoren, wie Luftabschluß, Wärme- und Feuchtigkeitsstauung auf der Haut als praedisponierende Faktoren angeschuldigt. (2, 4, 6, 10, 12, 14, 24, 26, 27, 32, 38, 40, 41, 43, 44, 45, 46, 47, 49, 55, 65, 66).

Für die Erosio interdigitalis candidomycetica und die Candidaparonychie ist außerdem die exogene Auflagerung von Zuckern auf die Haut als praedisponierender Faktor zu diskutieren (28, 56).

Diese Angaben über praedisponierende Faktoren bei Candidiasis erklären nicht ohne weiteres, wie es zu einer Begünstigung des Pilzwachstums kommt. Bezüglich der

Antibiotika wird eine direkte Stimulierung des Pilzwachstums diskutiert (24, 26, 50).

Die Bedeutung des Diabetes wird vielfach so erklärt, daß eine Erhöhung des Zuckergehaltes der Haut als ein praedisponierender Faktor angenommen wird. Die entsprechenden Untersuchungsergebnisse wurden dabei an Hautexcisaten gewonnen (27, 48). Vor allem aber wird darauf hingewiesen, daß in der Scheide und auf den anderen Schleimhäuten ein erhöhter Zuckergehalt vorliegen könnte (24, 29, 42). Obwohl diese Erhöhung des Zuckergehaltes eine Wachstumsstimulierung von *Candida albicans* gut erklären würde (10, 68, 69), ist es unwahrscheinlich, daß auf der Hautoberfläche entsprechende Verhältnisse vorliegen, da dort nur sehr geringe Mengen an Glucose nachweisbar sind. Als weitere praedisponierende Hautveränderung wird eine Aufquellung und Erwärmung der Haut diskutiert (12, 46, 49).

Obwohl andere, nicht an der Hautoberfläche lokalisierte Faktoren die Disposition eines Patienten für die Candidiasis weitgehend bestimmen, konnten wir auch an der Hautoberfläche bemerkenswerte Befunde erheben. Es ließ sich eine signifikante Verminderung der mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode nachweisbaren reduzierenden Substanzen nachweisen. Im Gegensatz dazu fanden sich bei der Ferricyanid-Methode keine unterschiedlichen Werte. Diese Befunde sind am ehesten durch eine Reduktion der gebundenen Zucker zu erklären. Andere reduzierende Substanzen wie Milchsäure, Kreatinin, Hexosen, Pentosen, Zitronensäure und andere Zwischenprodukte des Glucoseabbaues kommen aus quantitativen Gründen kaum in Frage (18, 34-37, 52, 53, 61-63).

Ein entsprechender Befund konnte von GLOOR et al. früher bei Diabetikern nachgewiesen werden (20). Unsere Untersuchungen zeigen jedoch, daß nicht etwa die in unserem Candidiasis-Kollektiv enthaltenen Diabetiker diesen Be-

fund vortäuschen, da auch bei den Candidiasis-Patienten ohne einen Diabetes eine signifikante Reduktion der Meßwerte bei der Phenol-Schwefelsäure-Methode nachgewiesen werden konnte. Da Diabetiker aber besonders leicht zur Candidiasis neigen (10, 14, 31, 65, 66), spricht die Parallelität dieser Befunde bei Candidiasis-Patienten und Diabetikern dafür, daß es sich hierbei um einen relevanten praedisponierenden Faktor für die Candidiasis handelt. Eine entsprechende Praedisposition für Pyodermien scheint dieser Faktor nach früheren Befunden zu ergeben (22).

Ein weiterer signifikanter Unterschied zwischen den Candidiasis-Patienten und dem Vergleichskollektiv bezieht sich auf den prozentualen Anteil des Squalen. Die Verminderung des Squalen bei dem Candidiasis-Kollektiv erfolgt dabei hauptsächlich zugunsten der Wachs- und Cholesterinester. Eine Bedeutung dieses Befundes als praedisponierender Faktor ist wahrscheinlich, jedoch beim gegenwärtigen Stand der Erkenntnisse nur schwer verständlich.

Bei den übrigen durchgeführten Untersuchungen ergaben sich keine sicheren Beweise für andere praedisponierende Faktoren auf der Hautoberfläche für Candidiasis. Denkbar erscheint wegen der in der vorliegenden Stichprobe herabgesetzten Alkaliresistenz eine Verminderung der Barrierefunktion des stratum corneum als begünstigender Faktor für die Candidiasis. Die tendenziell sich andeutende Vermehrung der Aminosäuren im "Wasserlöslichen" bei der untersuchten Stichprobe deutet wahrscheinlich nicht auf einen praedisponierenden Faktor hin, da dieser Befund zum größten Teil durch die in dem Kollektiv enthaltenen Diabetiker bedingt ist, bei denen nach früheren Ergebnissen eine solche Vermehrung den Erwartungen entspricht (20).

Erwähnenswert ist noch, daß eine Störung des Säuremantels der Haut nach den vorliegenden Befunden als praedisponierender Faktor für eine Candidiasis unwahrscheinlich ist.

E. Zusammenfassung

Bei 20 Patienten mit einer Candidiasis und bei 39 gesunden Vergleichspersonen gleichen Alters und Geschlechts wurden auf der Hautoberfläche biochemische und physiologische Untersuchungen vorgenommen. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß im sog. Wasserlöslichen die mit der Phenol-Schwefelsäure-Methode nachweisbaren reduzierenden Substanzen bei den Candidiasis-Patienten signifikant verringert sind. Der gleiche Befund konnte erhoben werden, wenn lediglich die Werte derjenigen Candidiasis-Patienten berücksichtigt wurden, bei denen ein Diabetes mellitus ausgeschlossen werden konnte. Vermutlich handelt es sich dabei um eine Verminderung der gebundenen Zucker. Eine Bedeutung dieses Befundes für die Pathogenese der Candidiasis erscheint als wahrscheinlich. Die übrigen Untersuchungen erbrachten nicht den signifikanten Nachweis von Unterschieden zwischen den Candidiasis-Patienten und den gesunden Vergleichspersonen.

F. Literaturverzeichnis

1. Aebi, H.: Einführung in die praktische Biochemie
Akademische Verlagsgesellschaft
Frankfurt a.M., S. 172, 1965
2. Andriole V.T. und H.F. Hasenclever: Factors influencing experimental candidiasis in mice
I. Alloxan diabetes
Yale J. Biol. Med. 35, 96-112, 1962
3. Barker, S.B.: Preparation and Colorimetric Determination of Lactic Acid
Methods in Enzymology, Vol. III, S. 241-246
Academic Press, New York, 1957
4. Barlow A.J.E. und F.W. Chattaway: Observations on the carriage of *Candida albicans* in man
Brit. J. Derm. 81, 103-106, 1969
5. Blaschke-Hellmessen, R., U. Hübner und C. Seebacher: Vergleichende Untersuchungen zum Vorkommen von Sprosspilzen auf gesunder und krankhaft veränderter Haut
2. Zur Epidemiologie der Ausbreitung von Sprosspilzen auf gesunder und kranker Haut
Mykosen 15, 83-90, 1972
6. Blyth, W.: The influence of antibiotics on experimental moniliasis
II. Oxytetracycline and chlortetracycline
Mycopathologia (Den Haag) 16, 55-69, 1962
7. Burckhardt, W.: Funktionsprüfung der Haut
Dermatologie und Venerologie, H.A. Gotttron und W. Schönfeld
Bd. 1, Teil 1, S. 194-196
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1961
8. Carrié, C.: Untersuchungen über die chemischen Substanzen auf der Haut
1. Mitteilung: Methode zur Bestimmung chemischer Substanzen auf der Haut
Arch. Derm. Syph. (Berl.) 173, 604-606, 1936

9. Colowick S.P. und
N.O. Kaplan: Methods in encymology
Vol III, 241-249
Academic Press New York und
London 1957
10. Cormane R.H. und
W.R.Q. Goslings: Factors influencing the growth
of *Candida albicans*
in vivo and in vitro studies
Sabouraudia 3, 52-63, 1963
11. Cornbleet, Th.: Sweat reducing substances in
yeast dermatoses
J. Amer. med. Ass. 104,
1976-1979, 1935
12. Drake Th. E. und
H.I. Maibach: *Candida* and Candidiasis
I. Cultural conditions,
epidemiology and pathogenesis
Postgrad. med. J. 53, 83-87, 1973
13. Dubois, M.,
K.A. Gilles,
J.K. Hamilton,
P.A. Rebers und
F. Smith: The Phenol-Sulfuric-Acid-
Reaction for Carbohydrates
Anal. Chem. 28, 350 1956
Auszug in: *Methods in Enzymology*,
Vol. VIII,
Complex Carbohydrates
S. 93-95, Academic Press, New
York and London, 1966
14. Fegler, F.: Die Candidamykose heute
Pathogenese-Klinik-Therapie
Hippokrates (Stuttg.) 36, 827-
829, 1965
15. Geigy, J.R.
AG Pharma: Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage, Basel, 1968
16. Gent, C.M. van: Separation and microdetermination
of lipids by thin layer-chromato-
graphy followed by densiometrie
Z. anal.Chem. 236, 344-350, 1968
17. Gloor, M.,
U. Schulz,
G. Wieland und
I. Wiegand: Untersuchungen über einen Zu-
sammenhang zwischen Menge und
Zusammensetzung der Hautober-
flächenlipide
1. Mitteilung
Fortschr. Med. 90, 325-327, 1972
18. Gloor, M.,
M. Kionke und
H.C. Friederich: Publicandum

19. Gloor, M.,
D. Kämpel und
H.C. Friederich:
Über praedisponierende Faktoren
in der Haut bei Pityriasis
versicolor
Arch Derm. Forsch., im Druck
20. Gloor M.,
V. Marckardt und
H.C. Friederich:
Über biochemische und physio-
logische Besonderheiten auf der
Hautoberfläche des Diabetikers
Arch Derm. Forsch., im Druck
21. Gloor M.,
G. Ronneberger und
H.C. Friederich:
Publicandum
22. Gloor M.,
H.J. Weigel und
H.C. Friederich:
Über praedisponierende Faktoren
bei impetigo contagiosa
Arch Derm. Forsch., im Druck
23. Graumann, U.:
Über Menge und Zusammensetzung
der Hautoberflächenlipide bei
Akne vulgaris und deren Beein-
flußbarkeit durch Tetracycline
Inauguraldissertation Marburg
a.d. Lahn, 1972
24. Grimmer, H.:
Antibiotica und Pilzerkrankungen
der Haut und Schleimhaut
Antibiot. and Chemother. 1,
180-234, 1954
25. Heite, H.J.:
Diabetes, Candidabesiedlung und
mikrobielles Unterschenkeleczem
Z. Haut-Geschl. Kr. 44, 755-759,
1969
26. Henry B. und
W.J. Fahlberg:
The potentiating effect of
hydrocortisone acetate and
tetracycline on monilial infection
in mice
Antibiot. and Chemother. 10,
114-120, 1960
27. Hermans P.E.,
J.A. Ulrich und
H. Markowitz:
Chronic mucocutaneous candidiasis
as a surface expression of deep
seated abnormalities
Amer. J. Med. 47, 503-519, 1969
28. Herrmann F. und
W. Sehr:
Über die Verteilung von Glucose
und aufgetragenem Material auf
der menschlichen Hautoberfläche
Hautarzt 22, 388-390, 1971

29. Hesseltine C.: Factors relating to mycotic and trichomonal infections
Ann. N. Y. Acad. Sci. 83, 245-252
30. Heyns K. und M. Rolle: "Die Umsetzung von D-Fructose mit Gelatine"
Chem. Berichte 92, 2451 ff (1959)
31. Huppert M. und J. Cazin: Pathogenesis of candida albicans infection following antibiotic-therapy
II. Further studies of the effect of antibiotics on the in vitro growth of candida albicans
J. Bact. 70, 435-439, 1955
32. Huppert M., J. Cazin und H. Smith: Pathogenesis of candida albicans infection following antibiotic-therapy
III. The effect of antibiotics on the incidence of candida albicans in the intestinal tract of mice
J. Bact. 70, 440-447, 1955
33. Jacobi, O.: Kolloid-Z. 114, H. 2, 88 (1949)
34. Jacobi, O.: Die Inhaltsstoffe des normalen stratum corneum und Callus menschlicher Haut
1. Wasser, Hauttalg, reduzierende Substanzen, Pentosen, Desoxyribose, Glucosamin
Arch klin exp Derm. 230, 183-194, 1967
35. Jacobi, O.: Die Inhaltsstoffe des normalen stratum corneum und Callus menschlicher Haut
2. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen auf freie und gebundene Zucker
Arch klin exp Derm. 233, 383-406, 1969
36. Jacobi, O.: Die Inhaltsstoffe des normalen stratum corneum und Callus menschlicher Haut
3. Milchsäure, Kreatin, Kreatinin, Harnstoff und Cholin
Arch. klin. exp. Derm. 240, 107-118, 1971

37. Jacobi, O.: Die Inhaltsstoffe des normalen stratum corneum und Callus menschlicher Haut
4. Zitronensäure, Ascorbinsäure, Phosphor, Gesamtpurin, Harnsäure, Purine und Pyrimidine
Arch. Derm. Forsch. 247, 353-366, 1973
38. Jung, H.D.: Mathematisch statistische Analysen über die Mykosefrequenz in einer diabetischen Population
Arch. klin. exp. Derm. 206, 526-529, 1957
39. Kandhari K.C., J.S. Fasricha, S.K. Duggal und R.K. Pandhi: Investigations in to the causation of increased susceptibility of diabetics to cutaneous infections
Indian J. med. Res. 57, 1295-1302, 1969
40. Kärcher, K.H.: Die Candidamykose
Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten
Erg.-Werk IV/4, 1-64
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1965
41. Kärcher, K.H.: Zur Pathogenese der Candidamykosen
Mykosen 3, 31-36, 1960
42. Knight L. und J. Fletcher: Growth of candida albicans in saliva : stimulation by glucose associated with antibiotics, corticosteroids and diabetes mellitus
J. infect. Dis. 123, 371-377, 1971
43. Landt, F.: Stimulatoren der Candidainfektion
Med. Welt 18 (N.F.), 2135-2136
44. Langhof H. und U. Kraul: Calciummangel tetanie als Disposition zur Candidainfektion
Hautarzt 16, 74-75, 1965
45. Lynch P.J., W. Minkin und E.B. Smith: Ecology of candida albicans in candidiasis of the groin
Arch. Derm. 99, 154-160, 1969

46. Mackenzie, D.W.: Effect of relative humidity on survival of candida albicans and other yeasts
Appl. Microbiol. 22, 678-682, 1971
47. Maibach, H.I. und A.M. Kligman: The biology of experimental human cutaneous moniliasis (Candida albicans)
Arch Derm. 85, 233-256, 1962
48. Majumdar, T.D.: Der Zuckergehalt der Haut bei Candidainfektionen
Hautarzt 14, 370-372, 1963
49. Meinhof, W.: Epidermophytien und Candidamykosen
Fortschr. Med. 92, 673-676, 1974
50. Meyer-Rohn, J. und Th. Lange-Brock: Untersuchungen zur Frage der Wachstumsstimulierung von Candida albicans durch Antibiotica
Arch. klin. exp. Derm. 204, 58-69, 1957
51. Moore, S. und W.H. Stein: The Modified Ninhydrin Reagent for the Photometric Determination of Amino Acids and Related Compounds
J. biol. Chem. 211, 907, 1954
52. Padberg, G.: Über die Kohlenhydrate im wässrigen Eluat der menschlichen Hautoberfläche
Arch. klin. exp. Derm. 229, 33-39, 1967
53. Padberg, G.: Die Bildung der neutralen Kohlenhydrate der Hornschicht
Arch. klin. exp. Derm. 231, 415-423, 1968
54. Park, J.T. und M.J. Johnson: Colorimetric Analysis of Sugars, Ferricyanid Method
J. biol. Chem. 181, 149 (1949)
Auszug in: Methods in Enzymology, Vol. III, S. 86-87
Academic Press, New York and London, 1957

55. Popchristov P.,
I. Bogdanov und
W. Baldanow: Über die Rolle der normalen
Mikrobenflora des Menschen
und das Auftreten von Moniliasis
und bakteriellen Infektionen
nach Anwendung von Antibiotica
Dtsch. Gesundh.-Wes. 11, 1560-1567,
1956
56. Rimbaud, M.P.: Les candidoses cutanées
Montpellier méd. 59, 8-17, 1961
57. Sachs, L.: Statistische Auswertungsmethoden
S. 365-367
S. 293-300
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-
New York, 1968
58. Schirren, C.G. und
C. Honsig: Über die Lipidregenerationszeit
im Bereich talgdrüsenfreier Haut
Hautarzt 19, 53-56, 1968
59. Schneider, W. und
H. Schuleit: Der Fettmantel der Haut und seine
Bedeutung für die Benetzung
Arch. Derm. Syph. (Berl.) 193,
434-459, 1951
60. Seebacher, C.,
U. Hübner und
R. Blaschke-Helmessen: Vergleichende Untersuchungen zum
Vorkommen von Sproßpilzen auf
gesunder und krankhaft ver-
änderter Haut
1. Mitteilung: Das Vorkommen von
Sproßpilzen auf gesunder und
kranker Haut
Mykosen 14, 371-383, 1971
61. Spier, H.W. und
G. Pascher: Zur analytischen und funktionellen
Physiologie der Hautoberfläche
Hautarzt 7, 55-60, 1956
62. Spier, H.W. und
G. Pascher: Physiologie der Hautoberfläche
Akt. Probl. Derm. 1, 1-46
Karger Verlag Basel-New York 1959
63. Spier, H.W. und
G. Pascher: Analytische und physiologische
Untersuchungen über die wasser-
löslichen Inhaltsstoffe der
peripheren Hornschicht (Hautober-
fläche)
Acta dermat. venerol. Proc. 11 th
int. Congr. Derm. Stockholm
1957, 2, 14-22, 1960

64. Tronnier, H. und
I. Jessen: Untersuchungen über das Spreit-
vermögen der menschlichen Haut
in Abhängigkeit von konditionellen
und konstitutionellen Faktoren
Z. Haut Geschl. Kr. 43, 4:
143-152 (1968)
65. Weitgasser, H. und
M. Klima: Neue Gesichtspunkte in der Frage
eines ev. Zusammenhanges des Haut-
diabetes und des potentiellen
Diabetes (sog. Praediabetes)
Z. Haut Geschl. Kr. 41, 311-321,
1966
66. Yawalkar, S.J. und
J.W. Aurangalbadkar: Dermatological 'manifestations
in diabetes mellitus
Indian Practit. 22, 447-450, 1969
67. Zaun, H.: Zur Frage der Bedeutung von Zucker-
ablagerungen auf der Haut für
die Besiedelung mit Pilzen
Arch. klin. exp. Derm. 218,
415-421, 1964
68. Zaun, H. und
El Mozayan: Hautoberflächenzucker als Milieu-
faktor für die mikrobielle Be-
siedelung der Haut
Hautarzt 24, 428-430, 1973
69. Zaun, H. und
R. Naschar: Untersuchungen über die Häufig-
keit physiologischer Zuckerab-
lagerungen auf der gesunden Haut-
oberfläche
Arch. klin. exp. Derm. 223,
438-448, 1965

Herrn Prof. Dr. med. H. C. Friederich danke ich für die Themenstellung und die Überlassung eines Arbeitsplatzes in der Dermatologischen Klinik.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. habil. M. Gloor für die jederzeit gewährte Hilfe und Beratung bei der Durchführung der Arbeit.

Für die technische Unterstützung von Herrn Kionke, Frau Baumann, Fräulein Kümpel, Fräulein Hoeck und Frau Ronneberger vom Biochemischen Labor der Dermatologischen Klinik bedanke ich mich ganz herzlich.

Besonderen Dank schulde ich der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 23. August 1947 wurde ich als Kind des Zahnarztes Dr. Karl Georg Janke und dessen Ehefrau, der Ärztin Dr. Anna Dorothea Janke, geb. von Chmielewski, in Mindelheim (Bayern) geboren.

In Marburg a. d. Lahn besuchte ich von 1954 - 1958 die Volksschule und anschließend das Gymnasium Philippinum, wo ich am 19. Juni 1967 das Reifezeugnis erwarb.

Von Oktober 1967 bis Juli 1973 studierte ich in Marburg Zahnheilkunde. Am 24. Juli 1973 bestand ich dort das zahnärztliche Staatsexamen.

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität Marburg waren die Damen und Herren Professoren und Dozenten:

Amon, Aurich, Castenholz, Dimroth, Engelhardt, Friederich, Gloor, Goebell, Haan, Hennis, Hering, Heuser, Hohorst, Hort, Janke, Karlson, Keil, Koecke, Korb, Kühnel, Mahr, Niemeyer, Nöth, Pantke, Petry, Pfütz, Riecken, Rohen, Rosemann, Rupec, Schiff, Schmidt, Schmitz-Mormann, Schnell, Seidel, Streicher, Strohmeyer, Stuke, Vogt, Walcher.

